DIE HORMONELLE STEUERUNG DER SEXUELLEN REIFUNG, DES WEIBLICHEN ÖSTRUSZYKLUS UND DER GRAVIDITÄT BEI DER RATTE

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von

Klaus-Dieter Döhler
aus Weilburg an der Lahn

Göttingen 1974

DIE HORMONELLE STEUERUNG DER SEXUELLEN REIFUNG, DES WEIBLICHEN ÖSTRUSZYKLUS UND DER GRAVIDITÄT BEI DER RATTE

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von

Klaus-Dieter Döhler
aus Weilburg an der Lahn

Göttingen 1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

D 7

Referent: Apl. Prof. Dr. Klaus Fischer

Korreferent: Prof. Dr. Georg Birukow

Tag der mündlichen Prüfung: 1.11.1974

Meiner lieben Mutter und meiner treu sorgenden Frau

in Dankbarkeit gewidmet

Allen die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben sei an dieser Stelle mein Dank gewidmet.

Dem National Institute of Health in Bethesda (Maryland, USA) danke ich für die großzügige Lieferung von Radioimmunoanalysenbestecken und ovinem Prolaktin. Herrn Elger (Schering AG, Berlin) schulde ich Dank für die Bereitstellung von Testosteronpropionat und Cyproteronacetat, Herrn Hasan (Schering AG, Berlin) für Anti-Progesteron 11-alpha-succinyl BSA, Herrn Flückiger (Sandoz,Basel) für 2-Br-alpha-Ergokryptin und Herrn Doerr für Anti-3-KLH-Östradiol und Anti-3-Testosteron-BSA.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern der Abteilung Neurophysiologie des Max-Planck-Institutes für Biophysikalische Chemie in Göttingen-Nikolausberg mit ihrem Leiter Herrn Professor O. Creutzfeldt, insbesondere aber meinen Kollegen aus dem neuroendokrinologischen Labor Herrn S. Engelbart, Herrn M. Fenske, Herrn W. Hilgendorf, Frl. S. Langenstein und Frl. U. Mecke für ihre kollegiale Zusammenarbeit. Meinem Doktorvater aus dem Zoologischen Institut der Universität Göttingen Herrn Professor Fischer danke ich für das Interesse, das er stets meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Ganz besonderer Dank gebührt jedoch meinem verehrten Lehrer und Betreuer meiner Arbeit, meinem liebenswerten Kollegen und persönlichen Freund Herrn Priv. Doz. Dr. Wolfgang Wuttke für seine zahlreichen Anregungen, seinem immer währendem Interesse an dieser Arbeit und seiner aufopfernden Hilfsbereitschaft.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534919_0022

INHALTSVERZEICHNIS

			Seite
I.		Einleitung	1
II.		Material und Methoden	14
	A.	Versuchstiere und Behandlung	14
	1.	Jungtiere	14
	a.	Aufstellung von Hormonprofilen	14
	b.	Tagesrhythmik	16
	c.	Prolaktinbehandlung	16
	d.	CB 154-Behandlung	17
	e.	Behandlung mit Testosteronpropionat oder Cyproteronacetat	18
	2.	Geschlechtsreife Tiere	18
	a.	Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung	20
	b.	Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung	21
	B.	Drogen	22
	1.	2-Br-α-Ergokryptin (CB 154)	22
	2.	Ovines Prolaktin	23
	3.	Testosteronpropionat	23
	4.	Cyproteronacetat	23
	C.	Serumgewinnung	24
	1.	Herzpunktion	24
	2.	Dekapitation	24
	D.	Radioimmunologische Hormonbestimmung	25
	1.	Doppelantikörper-Radioimmunoanalyse	25
	2.	Steroidbestimmung	27
	E.	Statistische Analysen	29

Seite

III. Ergebnisse 29

1. Jungtiere 29

a. Aufstellung von Hormonprofilen 29

b. Tagesrhythmik 37

c. Prolaktinbehandlung 43

d. CB 154-Behandlung 50

e. Maskulinisierung von Weibchen und Feminisierung von Männchen 54

2. Geschlechtsreife Tiere 57

a. Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung 57

b. Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung 67

IV. Diskussion 74

1. Jungtiere 74

2. Geschlechtsreife Tiere 92

a. Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung 92

b. Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung 95

V. Zusammenfassung 101

VI. Literaturverzeichnis 104

Liste der Abkürzungen und technischen Ausdrücke

CB 154 (2-Br-α-Ergokryptin)	Synthetisches Mutterkorn-alkaloid
Cyproteronacetat (CA)	Antiandrogene Droge
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
Gamma-Zähler	Gerät zur Messung von Gamma-Strahlung
LH	Luteinisierendes Hormon
NIAMDD	National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases
NIAMDD - RP - 1	Referenzeinheit des NIAMDD
NIH	National Institute of Health
PIF	Prolactin Inhibiting Factor
Flüssigkeits-Szintillations-zähler	Gerät zur Messung von β-Strahlung
Testosteronpropionat (TP)	Androgene Droge

PMS	Pregnant Mare's Serum Gonadotropin
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
g	Gramm
µg	Mikrogramm (= 10^{-6} Gramm)
ng	Nanogramm (= 10^{-9} Gramm)
pg	Picogramm (= 10^{-12} Gramm)
ml	Milliliter
µl	Mikroliter

I. Einleitung

Die Fortpflanzungsaktivität frei lebender geschlechtsreifer Wirbeltiere ist meist nicht gleichmäßig über das Jahr verteilt, sondern ist auf eine oder mehrere spezifische Perioden beschränkt. Äußere Faktoren wie Tageslänge, Temperatur und Feuchtigkeit zählen häufig zu den Auslösern erhöhter Fortpflanzungsaktivität (Allanson und Deansley, 1934, Aschoff 1958 und 1960, Baker und Ranson 1932, Benoit et al. 1950, Bissonette 1932 und 1933, Bissonette und Chapnick 1930, Bissonette und Csech 1937, Farner 1959, 1961 und 1962, Hammond 1954, Marshall 1936, 1942 und 1956, Rowan 1925, Skreb 1954, Thibault et al. 1966), Faktoren also, die auch direkten Einfluß auf das Angebot an Nahrung, Nest- und Schutzmaterial haben. Durch Domestikation (Van der Werff ten Bosch 1963) und damit vermehrten Schutz vor der Umwelt wurde der Selektionswert des Saisonbrütens bei Haus- und Laboratoriumtieren in Frage gestellt. Das Hauskaninchen beispielsweise zeigt im gesamten Jahresverlauf Fortpflanzungsaktivität, während sich das Wildkaninchen an die Frühjahr- und Sommersaison hält (Hill und White 1934, Marshall 1922). Auch die Hauskatze und der Haushund unterliegen nicht der saisonbedingten Fortpflanzungsaktivität, wie sie bei den in freier Wildbahn lebenden Spezies ihrer Familien vorkommt (Clegg und Ganong 1969). Es ist daher nicht verwunderlich, daß bei vielen Haus- und Laboratoriumtieren die Fortpflanzungsaktivität unab-

hängig von der Jahreszeit in relativ regelmäßigen Zyklen - auch Östruszyklen genannt - vorkommt.

Die Weibchen vieler dieser Tiere ovulieren unabhängig von äußeren Einflüssen wie z.B. Ratte (Long und Evans 1922), Maus (Allen 1922), Meerschweinchen (Hilliard 1973), Hamster (Deansley 1938), Schwein, Affe und auch der Mensch. Andere Spezies wie z.B. Katze (Sojka et al. 1970) und Kaninchen (Chang 1958, Sawyer 1959) zeigen zwar auch Sexualzyklen, ovulieren jedoch nur nach koitalem Reiz (provozierter Follikelsprung). Pferde, Schafe und Ziegen sind domestizierte Tiere, die weniger im Haus als auf freiem Felde leben. Auch sie durchlaufen mehrere Östruszyklen, doch sind diese meist an bestimmte Jahreszeiten gebunden. Während der übrigen Zeiten im Jahr sind sie anöstrisch (Clegg und Ganong 1969). Wohlgenährte Pferde, die die meiste Zeit im Stall verbringen, zeigen jedoch während des ganzen Jahres Paarungsverhalten. Werden sie aber auf einer Grasdiät gehalten, dann durchlaufen sie im Winter eine anöstrische Periode (Day 1939).

Die adulten Männchen der meisten Haustier- und Laboratoriumspezies sind meist zu jeder Zeit paarungsbereit, die Weibchen jedoch nur zur Zeit des Östrus, während der auch die Ovulation erfolgt.

Der weibliche Östruszyklus ist durch Veränderungen der

Geschlechtsorgane charakterisiert. Diese Veränderungen werden durch rhytmische Hormonausschüttungen des Zentralnervensystems - hier insbesondere des Hypothalamus - der Hypophyse und der Ovarien bestimmt. Der jeweilige Zykluszustand eines Tieres kann durch Hormonbestimmung, mit Hilfe von Verhaltensstudien und auch mit Hilfe cytologischer Untersuchungen der Vaginalschleimhaut festgestellt werden. Bei der Ratte z.B. finden wir einen Östruszyklus von 4 oder 5 Tagen Länge vor, der in 4 etwa gleich lange Stadien eingeteilt werden kann. Während des Proöstrus wird die vaginale Schleimhaut von einer Schicht Epithelzellen abgegrenzt. Der vaginale Abstrich ist in diesem Stadium durch kernhaltige Epithelzellen gekennzeichnet. Die verzögerte Einwirkung der im Serum ansteigenden Östrogen- und Progesteronwerte auf die Epithelzellen führen am Östrustag zu einer Verhornung dieser Zellen. Der Östrusabstrich zeigt daher große, kernlose, verhornte Zellen. Während des Metöstrus dringen Leukocyten an die Oberfläche der Vaginalschleimhaut vor. Der Metöstrusabstrich ist daher durch die Anwesenheit von Leukocyten und großen, verhornten Zellen gekennzeichnet. Während des folgenden Diöstrus finden sich vorwiegend nur noch Leukocyten im vaginalen Abstrich (Long und Evans 1922).

Die Ovulation findet bei der Ratte in der Nacht vom Proöstrus zum Östrus statt. Am Östrusmorgen können die Eier

in den Eileitern gefunden werden. Außerdem haben sich zu diesem Zeitpunkt frische Corpora lutea (Gelbkörper) in den Ovarien gebildet. Neue Follikel sind zwar zu erkennen, beginnen aber erst am folgenden Metöstrustag langsam zu wachsen. Während des Diöstrus beginnt der Hypophysenvorderlappen vermehrt Follikel stimulierendes Hormon (FSH) in den Blutkreislauf auszuschütten (Lawton und Sawyer 1968), welches an den Ovarien eine beschleunigte Follikelreifung bewirkt. Die reifenden Follikel produzieren Östrogene, die über die Blutbahn zur Hypophyse gelangen und dort eine stärkere FSH Ausschüttung veranlassen (positive Rückkoppelung). Auf diese Weise wird die Follikelreifung lawinenartig angeregt. Die von den Follikeln ausgeschütteten Östrogene erreichen am Proöstrustag so hohe Werte, daß eine massive Ausschüttung von luteinisierendem Hormon (LH), FSH und Prolaktin durch den Hypophysenvorderlappen veranlaßt wird (Freeman et al. 1972, Miyake 1969, Neill et al. 1971). Dem folgt eine vermehrte ovarielle Progesteronsekretion (Hashimoto et al. 1968, Miyake 1969, Piacsek et al. 1971, Schneider et al. 1970, Yoshinaga et al. 1971), die Östrogenausschüttung aber läßt nun nach (Schwartz 1969). Die vermehrte LH Ausschüttung am Proöstrusnachmittag induziert die Ovulation in der späten Nacht. Der Östrogenanstieg am Proöstrusmorgen, gefolgt von dem Progesteronanstieg am Proöstrusnachmittag, ist für das Paarungsverhalten verantwortlich, welches am Proöstrusabend beginnt (Schwartz 1970).

Die Rolle des Prolaktinanstiegs vor der Ovulation ist noch relativ unklar. Wuttke et al. (1971) hemmten die Prolaktinausschüttung am Proöstrusnachmittag durch Injektion von Ergokornin, einem Mutterkornalkaloid, ohne dabei die Ovulation zu beeinflussen, oder den Östruszyklus zu verändern. Andererseits zeigten Wuttke und Meites (1971), daß bei Hemmung der proöstrischen Prolaktinausschüttung durch Ergokornin die morphologische Luteolyse gehemmt wird. Die genaue Wirkungsweise von Mutterkornalkaloiden ist noch unbekannt, aber es konnte gezeigt werden, daß sie die hypophysäre Prolaktinausschüttung sowohl durch direkte Wirkung an der Hypophyse (Lu et al. 1971, Malven und Hage 1971), als auch durch Erhöhung des hypothalamischen Prolaktin Inhibiting Faktors (PIF) hemmen (Wuttke et al. 1971). Dabei wirken Mutterkornalkaloide spezifisch nur auf Prolaktin, die anderen Hypophysenhormone werden bei geringer Dosis nicht beeinflußt (Nagasawa und Meites 1970, Wuttke et al. 1971).

Nach der Ovulation dient Prolaktin möglicherweise der Stimulation der Corpora lutea der Gravidität oder Pseudogravidität. Den durch die Injektion von Ergotoxin verursachten Abbruch der Gravidität konnte Shelesnyak (1958) durch Prolaktininjektionen verhindern. Während sich im Zyklus die Prolaktinausschüttung am Östrustag wieder abschwächt, ergibt sich bei erfolgter Paarung oder bei mechanischer Reizung der Cervix uteri (führt

zur Pseudogravidität) ein völlig anderes Bild. Freeman und Neill (1972) fanden während der Pseudogravidität bei der Ratte Prolaktinhöchstwerte im Serum jeweils in der späten Nacht. Während der ersten Tage der Gravidität wurde von Butcher et al. (1972) ein 12-Stunden Rhythmus bei der Prolaktinausschüttung festgestellt mit Höchstwerten am Nachmittag und in der späten Nacht.

Die Progesteronwerte im Serum steigen an und fallen erst wenige Tage vor dem Werfen, bzw. vor dem Ende der Pseudogravidität wieder ab. Das Corpus luteum ist in erster Linie für diese Progesteronausschüttung verantwortlich. Während der ersten 12 Tage ist die Hypophyse zur Erhaltung des Corpus luteum graviditatis erforderlich. Hypophysektomie führt in dieser Zeit zu einer sofortigen Einstellung der Progesteronsekretion und zum Abbruch der Gravidität (Astwood 1941, Desclin 1949, Evans et al. 1941). Cutuly (1941 und 1942) wirkte diesem Effekt durch Prolaktin Substitution entgegen, welches möglicherweise aber nicht völlig rein war von anderen Hormonen (Lyons et al. 1943). Bei Hypophysektomie vor dem 7. Tag konnten Graviditäten durch Prolaktin mit Zusatz von Östron (Greenwald und Johnson 1968, Lyons et al. 1943), FSH (Greenwald und Johnson 1968), LH (Yang et al. 1973) oder LH plus FSH (Ahmad et al. 1969) aufrecht erhalten werden. Bei Hypophysektomie am 8. oder am 9. Tag reichten allein LH Substitutionen zu diesem Zweck (Yang et al. 1973, Lyons

und Ahmad 1973, Moudgal 1969, Yoshinaga et al. 1972). Hemmung der Prolaktinausschüttung führte bei der intakten graviden Ratte bis zum 7. Tag, nicht aber danach, zum Abbruch der Gravidität (Clemens et al. 1969, Shelesnyak 1955, Kisch und Shelesnyak 1968, Morishige und Rothchild 1974, Rezabek et al. 1969). LH-Neutralisation durch LH-Antiserum vor dem 12. Tag hatte den gleichen Effekt (Maneckjee et al. 1973, Loewit 1969, Loewit und Laurence 1969, Loewit et al. 1969, Raj und Moudgal 1970). Morishige und Rothchild (1974) zeigten, daß LH-Neutralisation nur nach dem 8. Tag, nicht aber am 6. oder 7. Tag zum Abbruch der Gravidität führte. Nach dem 12. Tag scheint das Corpus luteum nicht mehr von der Hypophyse, sondern von der Placenta erhalten zu werden (Morishige und Rothchild 1974, Kisch und Shelesnyak 1968, Zeilmaker 1968).

Nach dem Werfen wird durch den Saugreiz der Jungen der "Prolactin Inhibiting Factor" Gehalt im Hypothalamus verringert und daher vermehrt Prolaktin ausgeschüttet (Ratner und Meites 1964). Während der Gravidität und während der Laktation sind die Gonadotropinwerte im Serum niedrig, was vermutlich der negativen Rückkoppelungswirkung des Progesterons, sowie der eventuellen antigonadotropen Wirkung des Prolaktins zuzuschreiben ist. Dies ist auch der Grund, daß während der Gravidität und während der Laktation keine Ovulationen stattfinden. Beim Werfen,

jedoch, ovuliert die Ratte (Ying et al. 1973), was vermutlich der dabei stattfindenden cervikalen Reizung zuzuschreiben ist. Es bilden sich Corpora lutea der Laktation, über deren Funktion wenig bekannt ist.

Erst kürzlich zitierte J. Hilliard (1973) den Redner der zweiten C.G. Hartman Vorlesung, M.C. Chang (1971). M.C. Chang hatte dieses gleiche Zitat schon aus der ersten C.G. Hartman Vorlesung A.V. Nalbandovs (1970) entnommen, der sich auf ein Schreiben von C.G. Hartman selbst um 1945 herum berufen hatte. Nach diesem Zitat "ist das Corpus luteum noch immer das am meisten mißverstandene Gebilde, das es gibt."

Ein Teil dieser Studie soll der Untersuchung des Corpus luteum der Ratte dienen. Dabei soll das Schwergewicht insbesondere auf der Rolle liegen, die das Prolaktin bei der Bildung, der Aufrechterhaltung und dem Abbau des Corpus luteum spielt.

Im Gegensatz zu den weiblichen Haus- und Laboratoriumtieren zeigen die Männchen keinen Östruszyklus. Bei ihnen erfolgt eine tonische, relativ gleichmäßige Ausschüttung der Hypophysenhormone. Die ersten Befunde darüber, daß eine Substanz aus der Hypophyse den Prozeß der Spermatogenese kontrolliert, wurden von Smith (1927) veröffentlicht. Wie der weibliche Hypophysenvorderlappen,

so schüttet auch der männliche Follikel stimulierendes Hormon aus. Greep et al. (1936) postulierten für dieses Hormon eine induzierende und aufrechterhaltende Rolle bei der Spermatogenese, also bei der Reifung der männlichen Geschlechtszellen. Ein anderes Hypophysenhormon, das Zwischenzellen stimulierende Hormon (ICSH) stimuliert die Leydig'schen Zwischenzellen in den Testes (Greep et al. 1936), die für die Androgenproduktion verantwortlich sind (Greep et al. 1936, Woods und Simpson 1961). Das ICSH ist identisch mit dem weiblichen LH und wird seit jüngster Zeit auch beim männlichen Tier als LH bezeichnet.

Die Befunde von Greep et al. (1936) wurden jedoch sehr schnell in Frage gestellt, als Walsh et al. (1934), sowie Nelson und Merckel (1938) feststellten, daß Testosteron alleine die Spermatogenese bei hypophysektomierten Ratten aufrecht erhalten konnte. Diese Resultate deuteten darauf hin, daß die Gonadotropine keine direkte, sondern nur eine indirekte Rolle bei der Induktion und Aufrechterhaltung der Spermatogenese spielen. Trotz intensiver Studien während der letzten 20 Jahre (als Referenz siehe Steinberger und Steinberger 1972) konnte die Frage, welche Rolle die Gonadotropine LH und FSH bei der Spermatogenese spielen, noch nicht zufriedenstellend geklärt werden.

Die von den Testes produzierten Androgene stammen zum

größten Teil aus den Leydig'schen Zwischenzellen (Christensen und Mason 1965, Steinberger et al. 1970) und werden zur Ausbildung und Erhaltung der männlichen akzessorischen Geschlechtsdrüsen, zur Entwicklung und Erhaltung der sekundären männlichen Geschlechtsmerkmale, sowie zur Erhaltung der Libido benötigt. Weiterhin wirken sie auf die Spermatogenese und erzeugen eine negative Rückkoppelung auf die LH Sekretion (Ramirez und McCann 1963).

Schon 1916 und 1917 stellten Lillie, sowie Keller und Tandler (1916) bei ihren Studien mit sogenannten "Freemartins" - das sind geschlechtlich unterentwickelte weibliche Zwillingskälber, die neben einem männlichen Kalb im fötalen Stadium zur Entwicklung gelangten - die Vermutung auf, daß die Entwicklung eines Lebewesens zu einem männlichen oder weiblichen Individuum nicht allein genetisch bedingt ist, sondern zusätzlich bestimmter hormoneller Steuerungsmechanismen bedarf. Greene et al. (1939), sowie Swanson und Van der Werff ten Bosch (1964) erzeugten nach Androgen Injektionen gravider Ratten am 19. und 20. Tag eine Maskulinisierung der äußeren Genitalien bei den weiblichen Nachkommen des betroffenen Wurfes. Pfeiffer (1936) implantierte neugeborenen Rattenweibchen die Testes von männlichen Ratten. Als Erwachsene zeigten diese Weibchen keine Östruszyklen und hatten keine Ovulationen. Rattenmännchen, denen er die Testes

gleich nach der Geburt entfernte und stattdessen Ovarien implantierte, zeigten im Erwachsenenalter regelmäßige Östruszyklen und ovulierten. Heute gilt es als erwiesen, daß sich ein genetisch männliches Tier nur dann sexuell normal entwickelt, wenn zu ganz bestimmten Zeiten seiner embryonalen und postnatalen Entwicklung Androgene auf sein Zentralnervensystem einwirken. Ohne diese Androgeneinwirkungen, z.B. bei früher Kastration, oder bei Behandlung mit antiandrogenen Drogen, entwickelt sich das genetisch männliche Tier in Bezug auf Sexualverhalten, Gonadotropinausschüttung und Differenzierung der äußeren Genitalien sowie der sekundären Geschlechtsmerkmale wie ein weibliches Tier (Pfeiffer 1936, Neumann und Elger 1965 und 1966, Neumann et al. 1970). Ein weibliches Tier, auf das in der Entwicklungszeit Androgene einwirken, entwickelt in dieser Hinsicht männliche Eigenschaften (Arai und Gorski 1968a und 1968b, Barraclough 1961 und 1967, Barraclough und Gorski 1962, Dörner und Staudt 1969, Gorski und Barraclough 1963, Gorski und Wagner 1964, Gradi et al. 1965, Harris 1964, Harris und Levine 1965, Levine 1966, Nadler 1968, Swanson und Van der Werff ten Bosch 1964a und 1964b, Whalen 1964 und 1968).

Untersuchungen über die Wirkung von Androgenen auf die sexuelle Entwicklung liegen, wie oben aufgezeigt, in reichhaltiger Fülle vor, doch tatsächlich durchgeführte Messungen von Androgenen im präpuberalen Tier existieren

nur sehr spärlich und hier auch nur für das männliche Tier (Resko et al. 1968, Miyachi et al. 1973). Der Einfluß anderer Sexualhormone auf die Reifung, wie z.B. Gonadotropine, Prolaktin und ovarielle Steroide, ist fast völlig unerforscht. Zur biologischen Hormonbestimmung sind die Serummengen, die von präpuberalen Laboratoriumtieren gewonnen werden können, viel zu gering. Selbst zur radioimmunologischen Hormonbestimmung müssen die Serumproben wegen ihrer geringen Menge häufig zusammengefaßt werden. Sequenzmessungen am Einzeltier sind z.Zt. praktisch noch undurchführbar. Auf Grund der vorliegenden bruchstückhaften Ergebnisse ist es recht schwierig, sich ein Bild über das hormonelle Zusammenspiel zu machen, welches für die Reifung der Gonaden und der zentralnervösen Strukturen verantwortlich ist, die beim Erwachsenen die Integration aller Fortpflanzungsmechanismen bewirken.

Die Pubertät ist der Zeitpunkt, an dem das heranreifende Individuum zum fortpflanzungsfähigen wird. Bei der weiblichen Ratte ist diese Zeit äußerlich durch das Öffnen der Vagina gekennzeichnet. Dies geschieht etwa um den 40. Tag herum. Außerdem ist die Pubertät beim weiblichen Tier durch den Beginn der zyklischen Hormonausschüttung und durch die daraus resultierenden Ovulationen gekennzeichnet. Bei der männlichen Ratte beginnt die Spermatogenese etwa um den 4. bis 6. Lebenstag, und die ersten

Spermatozoen sind zwischen dem 40 und 45. Tag in den Tubuli der Testes zu finden (Clermont und Perey 1957). Der Transport der Spermatozoen zum vas deferens dauert weitere 13 bis 14 Tage (Clegg 1960). Beim Männchen ist die Pubertät durch das erste Vorhandensein von Spermatozoen in den vasa deferentia gekennzeichnet und tritt bei der Ratte etwa zwischen dem 55. und 60. Tag auf. Über die Mechanismen, die zur Pubertät führen, und die die Pubertät veranlassen, ist nur wenig bekannt. Daher konnte über diese Mechanismen seither nur spekuliert werden.

Ein weiterer Teil dieser Studie ist dazu gedacht, diese Mechanismen näher zu untersuchen. Durch Aufstellung von Hormonprofilen aller in diesem Labor meßbarer Sexualhormone vom Tag der Geburt bis zur Pubertät (beim Männchen bis zur Vollendung der Spermatogenese) in ein- bis zweitägigen Intervallen,sollten zunächst die normal vorliegenden Verhältnisse während der Reifung bei der Ratte geklärt werden. Da die Hormonausschüttung tagesrhythmischen Schwankungen unterliegen kann (Butcher et al. 1972, Freeman und Neill 1972, Leymarie et al. 1974, McNeilly et al. 1974), sollte diese Möglichkeit auch bei präpuberalen Tieren untersucht werden. Danach sollten Hormonmanipulationen weitere Aufschlüsse über die Wirkungsweise der Mechanismen geben, die zur Pubertät führen.

II. Material und Methoden

A. Versuchstiere und Behandlung

1. Jungtiere (siehe Tabelle I)

Die in diesen Versuchen verwandten Sprague-Dawley Ratten wuchsen alle in unserem eigenen klimatisierten (Temperatur 23 ± 1° C) Tierstall unter kontrollierten Lichtbedingungen auf (Lichtperiode von 5 bis 19 Uhr). Die Würfe wurden auf 8 bis 10 Tiere pro Wurf reduziert und bis zum 25. Lebenstag bei den Müttern belassen.

a. Aufstellung von Hormonprofilen

In dieser Studie sollten vom Tag der Geburt bis zur Pubertät Profile mehrerer Hormone aufgestellt werden. Hierbei wurden 2346 Tiere verwandt. Gruppen von Tieren wurden nach Geschlecht und Alter getrennt und durch Enthauptung mit einer Guillotine getötet. Das Blut wurde aufgefangen, einen Tag lang bei 4° C aufbewahrt und dann zentrifugiert. Das Serum wurde vom Blutkuchen getrennt und bis zur weiteren Verwendung für die radioimmunologischen Hormonbestimmungen eingefroren. Alle Blutproben wurden zwischen 15 und 17 Uhr entnommen. Bei den jüngeren Tieren wurde das Blut von 2 bis maximal 12 Tieren für jeweils eine Probe zusammengefaßt, bei den älteren (30 bis 47 Tage alt) wurde es individuell entnommen. Für jedes gemessene Hormon wurden 16 bis 20 Werte pro Tag und Geschlecht zur sta-

T a b e l l e I: Experimentelle Übersicht der Jungtierbehandlung

Art der Behandlung	Zeitpunkt d. Blutentnahme	Zweck der Behandlung
Blutentnahme im 1- bis 2-Tagesrhythmus	1. Tag bis Pubertät (40. - 47. Tag)	Hormonprofile für LH, FSH, Prolaktin, Progesteron, Östradiol und Testosteron: Geburt bis Pubertät
Blutentnahme über 24 Stunden	13. - 18. Tag 25. - 30. Tag	Aufstellung hormonaler Tagesprofile
Ovines Prolaktin vom 8. - 25. Tag	15. Tag 25. Tag Pubertät	Einfluß von exogenem Prolaktin auf den Zeitpunkt der Pubertät und auf die endogene Hormonausschüttung
CB 154 vom 18. Tag bis Pubertät	25. Tag 35. Tag Pubertät	Einfluß einer Hemmung der endogenen Prolaktinausschüttung auf den Zeitpunkt der Pubertät und auf die Ausschüttung anderer Hormone
Testosteronpropionat am 5. Tag bei Weibchen	15. Tag	Einfluß des Maskulinisierungseffektes auf die präpuberale weibliche Hormonausschüttung
Cyproteronacetat vom 1. - 10. Tag bei Männchen	15. Tag	Einfluß des Femininisierungseffektes auf die präpuberale männliche Hormonausschüttung

tistischen Analyse zusammengefaßt.

b. Tagesrhythmik

Die Möglichkeit tagesrhythmischer Schwankungen bei der Hormonausschüttung präpuberaler Tiere sollte in dieser Studie untersucht werden. Hierbei wurden 531 Jungtiere in zwei Altersgruppen aufgeteilt. Die eine Gruppe enthielt nur Tiere im Alter von 13 bis 20 Tagen, in der zweiten Gruppe waren die Tiere im Alter von 25 bis 30 Tagen zusammengefaßt. Untergruppen dieser Tiere wurden in 4-Stunden-Intervallen während einer Zeitspanne von 24 Stunden getötet und ihr Blut gesammelt. Das Blut von 2 bis 3 Tieren wurde für jede Probe vereint und bei jeder Hormonmessung 10 bis 12 Proben pro Zeiteinheit, Altersgruppe und Geschlecht zur statistischen Analyse zusammengefaßt.

c. Prolaktin Behandlung

In dieser Studie sollte der Einfluß von exogenem Prolaktin auf die Entwicklung von Jungtieren untersucht werden. 129 junge Ratten wurden vom 8. bis zum 25. Lebenstag 2 mal täglich mit 0,05µg Prolaktin (NIAMDD-Ovine-Prolactin S-11) pro Gramm Körpergewicht subcutan injiziert. 146 Kontrolltiere erhielten das gleiche Volumen physiologischer Kochsalzlösung (NaCl) zu den gleichen Zeiten injiziert. NaCl diente als Medium zum Lösen des Prolaktins. Die Tiere

wurden am 15., 25. oder 45. Lebenstag (die Weibchen am 2. Proöstrustag nach vaginaler Öffnung) getötet und ausgeblutet. Im Alter von 15 Tagen wurde das Blut von 3 Tieren pro Geschlecht zusammengefaßt, am 25. Tag nur noch von 2 Tieren, und später wurden die Blutproben individuell entnommen. Zur statistischen Analyse wurden 10 bis 12 Werte pro Tag und Geschlecht zusammengefaßt.

d. CB 154 Behandlung

Das Mutterkornalkaloid 2-Br-α-Ergokryptin ist auch unter der Bezeichnung CB 154 bekannt. Es ist ein synthetisches Lyserksäure Derivat mit Prolaktin-Sekretion hemmenden Eigenschaften. In dieser Untersuchung sollte die endogene Prolaktinausschüttung gehemmt und die damit verbundene Wirkung auf die Entwicklung von Jungtieren untersucht werden. Vom 18. Lebenstag bis zum Tag der vaginalen Öffnung (bei Männchen bis zum 40. Tag) wurden 97 junge Ratten mit jeweils 0,06 µg CB 154 pro Gramm Körpergewicht 2 mal täglich subcutan injiziert. Als Lösungsmittel diente eine 1%ige Alkohol-PBS Lösung, die auch den 95 Kontrolltieren in gleicher Menge und zu den gleichen Zeiten injiziert wurde. Die Tiere wurden am 25., 35., oder am 45. Tag (die Weibchen am 2. Proöstrustag nach vaginaler Öffnung) getötet und ausgeblutet. Bei den 25 Tage alten Tieren wurde das Blut von zwei Tieren pro Geschlecht vereint, bei den älteren Tieren wurden die Proben individuell entnommen. Zur statistischen Analyse wurden 10 bis

12 Werte pro Tag und Geschlecht zusammengefaßt.

e. Behandlung mit Testosteronpropionat oder Cyproteronacetat

In dieser Studie sollten weibliche Jungtiere durch Behandlung mit Testosteronpropionat maskulinisiert werden (als Referenz siehe Barraclough 1961) und männliche Jungtiere durch Behandlung mit Cyproteronacetat femininisiert werden (als Referenz siehe Neumann und Elger 1966). Hierzu wurden 66 weibliche Ratten am 5. Lebenstag jeweils mit 1 mg Testosteronpropionat in 0,05 ml Rizinusöl-Benzylbenzoat Gemisch subcutan injiziert, am 15. Tag getötet und ihr Blut individuell entnommen. 64 Kontrollweibchen erhielten die gleiche Behandlung mit dem Lösungsmittel. Vom ersten bis zum 10. Lebenstag erhielten 53 männliche Ratten täglich jeweils 1 mg Cyproteronacetat in 0,05 ml Rizinusöl-Benzylbenzoat Gemisch subcutan injiziert. Sie wurden am 15. Tag getötet und individuell ausgeblutet. 58 Kontrolltiere wurden auf die gleiche Weise mit dem Lösungsmittel behandelt.

2. Geschlechtsreife Tiere (siehe Tabelle II)

Für diese Versuche wurden nur geschlechtsreife, unerfahrene Sprague-Dawley Ratten verwandt, die regelmäßige Östruszyklen zeigten. Die Tiere wurden in einem temperatur- ($23 \pm 1^{\circ}$ C) und lichtkontrollierten Tierstall gehalten

Tabelle II: Experimentelle Übersicht der Behandlung von geschlechtsreifen weiblichen Ratten

Art der Behandlung	Zeitpunkt der Blutabnahme	Zweck der Behandlung
1. Injektion von CB 154 2 x täglich 2. Paarung mit Männchen 3. Blutentnahme	Östruszyklus Gravidität Laktation	Einfluß einer Hemmung der täglichen Prolaktinausschüttung auf 1. die Regelmäßigkeit des Östruszyklus 2. das Paarungsverhalten 3. die Induktion und Erhaltung der Gravidität 4. die Laktation
1. Injektion von CB 154 3 x täglich 2. Paarung mit Männchen 3. Blutentnahme	Östruszyklus Nach der Paarung	Einfluß einer Hemmung der täglichen und nächtlichen Prolaktinausschüttung auf 1. die Regelmäßigkeit des Östruszyklus 2. das Paarungsverhalten 3. die Induktion und Erhaltung der Gravidität 4. die Laktation

(Lichtperiode von 5 bis 19 Uhr). Nahrung und Wasser wurden im Überschuß gegeben.

a. Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung

100 weibliche Ratten erhielten täglich um 8 Uhr und um 19 Uhr jeweils eine subcutane Injektion von 50 µg CB 154 in PBS. 81 Tieren wurde PBS als Kontrollösung injiziert. Tägliche vaginale Abstriche sollten auch nach der Behandlung die Regelmäßigkeit des Östruszyklus bestätigen. Nach Ablauf eines Zyklus wurden fertile Rattenmännchen zu den Weibchen in die Käfige gesetzt. Paarungen fanden in der Nacht vom Proöstrus zum Östrus statt, wie an den Spermatozoen in den vaginalen Abstrichen am Östrustag zu erkennen war. Die CB 154-Behandlung wurde bei den weiblichen Tieren auch nach der Paarung fortgesetzt. 32 Versuchs- und 43 Kontrolltiere trugen ihre Gravidität aus und warfen normale Junge. Jedem Tier wurden an verschiedenen Tagen der Gravidität und während der Laktationsphase Blutproben durch Herzpunktion entnommen. Auch während der Laktationsphase wurde die CB 154-Behandlung fortgesetzt. Die Jungen wurden täglich gewogen und blieben bis zum 25. Lebenstag bei ihren Müttern.

66 Kontrolltiere wurden während der ersten 12 Tage der Gravidität in Gruppen von 5 bis 6 Tieren in 4-Stunden-Intervallen dekapitiert und ihr Blut individuell aufgefangen. Da Implantationsstellen im Uterus mit Sicherheit

erst nach dem 5. bis 6. Tag festgestellt werden konnten, wurden weitere 36 CB 154 behandelte und 38 Kontrolltiere am 7. Tag der Gravidität in Gruppen von 6 bis 7 Tieren in 4-Stunden-Intervallen dekapitiert und auch ihr Blut individuell aufgefangen. Die Anwesenheit von Implantationsstellen im Uterus bestätigte die Gravidität. Die Serumproben wurden bis zur Hormonanalyse tiefgefroren.

b. Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung

Gruppe 1: Bei 97 weiblichen Tieren dieser Gruppe sollte die Wirkung einer totalen Hemmung der Prolaktinausschüttung auf die Gravidität getestet werden. Alle Tiere erhielten täglich 3 Injektionen mit CB 154 (70 µg um 8 Uhr und um 17 Uhr, 100 µg um 24 Uhr). Die Behandlung begann am Proöstrustag und erfahrene Männchen wurden mit in die Käfige gesetzt. Während der 16-tägigen Behandlungszeit wurden von allen Weibchen regelmäßig vaginale Abstriche gemacht.

Gruppe 2: 78 weibliche Ratten wurden mit dem Lösungsmittel für CB 154 (1% Äthanol in 0,9% Kochsalzlösung) zu den gleichen Zeiten wie die Tiere der Gruppe 1 injiziert und mit Männchen gepaart. Sie wurden dann während der ersten 4 Tage nach der Paarung zu verschiedenen Zeiten getötet und individuell ausgeblutet. Diese Tiere dienten als gepaarte Kontrolltiere.

Gruppe 3: 64 weibliche Tiere erhielten die gleiche Injektionsbehandlung wie die Tiere in Gruppe 2, doch wurden

sie nicht gepaart. Diese Tiere, die alle normale Zyklen zeigten, wurden zu den gleichen Zeiten getötet und ausgeblutet wie die Tiere der Gruppe 2. Sie dienten als nicht gepaarte Kontrolltiere.

Gruppe 4: 152 weibliche Ratten erhielten die gleiche CB 154-Behandlung wie die Tiere der Gruppe 1. Auch sie wurden mit erfahrenen Rattenmännchen gepaart. Untergruppen von 6 bis 10 gepaarten Weibchen wurden zu 3 verschiedenen Tageszeiten während der ersten 4 Tage nach der Paarung dekapitiert und ihr Blut individuell aufgefangen. Hätte die Wirkung des CB 154 im Rattenkörper mit der Zeit nachgelassen, wäre dies am besten durch Prolaktinmessung kurz vor der nächsten Injektion festzustellen gewesen. Die Zeiten des Dekapitierens wurden daher auf 7 Uhr, 16 Uhr und 23 Uhr festgelegt, also jeweils eine Stunde bevor die nächste Injektion stattgefunden hätte.

Gruppe 5: 64 weibliche Ratten wurden zu den gleichen Zeiten und mit den gleichen Dosen CB 154 injiziert wie die Tiere in Gruppe 1 und 4. Auch sie wurden mit Männchen gepaart, doch wurde die CB 154-Behandlung zu verschiedenen Zeiten während der ersten 4 Tage nach der Paarung beendet.

B. Drogen

1. 2-Br-α-Ergokryptin (CB 154)

Die Firma Sandoz in Basel stellte das in diesen Versuchen

verwandte CB 154 zur Verfügung. Es wurde in geringer Menge Äthanol gelöst und mit Phosphatpuffer oder physiologischer Kochsalzlösung auf 20 µg/ml verdünnt.

2. Ovines Prolaktin

Das National Institute of Health (NIH) in Bethesda, Maryland stellte das in diesen Versuchen verwandte ovine Prolaktin NIH-P-S 11 zur Verfügung. Seine Potenz betrug 26,4 internationale Einheiten pro Milligramm. Die Verunreinigung mit anderen Hypophysenhormonen war gering. Sie betrug für FSH weniger als 0,02 NIH-FSH-S 1 Einheiten/mg, für LH weniger als 0,004 NIH-LH-S 1 Einheiten/mg, für TSH (Thyreoidea stimulierendes Hormon) weniger als 0,004 USP Einheiten/mg und für Wachstumshormon weniger als 0,01 internationale Einheiten/mg. Das ovine Prolaktin wurde für die Verwendung im Versuch mit physiologischer Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 10 µg/ml verdünnt.

3. Testosteronpropionat

Die Schering Werke AG, Berlin, stellten das in diesen Versuchen verwandte Testosteronpropionat (TP) zur Verfügung. Es wurde in einem Teil Benzylbenzoat unter leichtem Erhitzen aufgelöst und mit 9 Teilen Rizinusöl verdünnt. Die Endkonzentration betrug 1 mg/0,05 ml Öl.

4. Cyproteronacetat

Auch Cyproteronacetat stellten die Schering Werke AG,

Berlin, zur Verfügung. Cyproteronacetat wurde in einem Teil Benzylbenzoat unter leichtem Erhitzen aufgelöst und mit 9 Teilen Rizinusöl verdünnt. Die Endkonzentration betrug 1 mg/ 0,05 ml Öl.

C. Serumgewinnung

1. Herzpunktion

Die zu punktierende Ratte wurde kurz mit Diäthyläther narkotisiert. Von der Ventralseite wurde ihr Herz dann ohne chirurgischen Eingriff mit einer 1 ml Kanüle punktiert. Bis zu 1 ml Blut wurde aus der angestochenen Herzkammer gesaugt und in ein Teströhrchen gefüllt.
Die Anwendung dieser Methode war vorteilhaft, wenn sequentielle Hormonmessungen am gleichen Tier durchgeführt werden mußten.

2. Dekapitation

Größere Serummengen konnten von einem Tier nur durch Ausbluten gewonnen werden. Hierzu wurde das Tier mit Hilfe einer Guillotine dekapitiert. Das auslaufende Blut wurde in Teströhrchen aufgefangen. Diese Methode bot sich an, wenn sehr viele Hormone in der gleichen Serumprobe bestimmt werden sollten.

Alle Blutproben wurden zum Koagulieren für mehrere Stunden bei 4° C gehalten und dann 10 Minuten lang zentrifugiert.

Das Serum wurde vom Blutkuchen getrennt und bei - 30° C bis zur weiteren Verwendung für die radioimmunologischen Hormonbestimmungen eingefroren.

D. Radioimmunologische Hormonbestimmung

1. Doppelantikörper-Radioimmunoanalyse

Proteohormone im peripheren Blut können mit Hilfe von Doppelantikörper-Radioimmunoanalysen bestimmt werden. Nach Immunisierung mit einem hochgereinigten Hormonpräparat bilden Kaninchen oder Meerschweinchen einen spezifischen Antikörper gegen das applizierte Hormon. Dieser Antikörper (Antikörper I) ist in der Lage, auch in vitro Antigen - das betreffende Hormon,welches zur Immunisierung verwandt wurde - zu binden. Ein weiterer Antikörper (Antikörper II) wird nun benötigt, um den Antigen-Antikörper I-Komplex zu präzipitieren. Da der erste Antikörper ein Gammaglobulin ist, wird der zweite Antikörper durch Immunisierung von Rindern, Schafen oder Ziegen mit dem entsprechenden Kaninchen-, bzw. Meerschweinchengammaglobulin gewonnen. Um das Präzipitat (Antigen-Antikörper I - Antikörper II) im Gamma-Zähler meßbar zu machen, muß das Antigen zuvor radioaktiv markiert werden. Dies geschieht durch oxydative Einlagerung von Jod 125 oder Jod 131 in das Proteohormon (Antigen) durch Chloramin T (Hunter und Greenwood 1962, Hunter 1969). Das somit radioaktiv markierte ("heiße") Hormon wird vom

restlichen freien Jod in einer Sephadex G 75 Säule getrennt.

Zum Feststellen der spezifischen Bindung an den Antikörper wird das radioaktiv markierte Hormon zunächst für 24 Stunden bei 4° C mit dem ersten Antikörper inkubiert. Den nach dieser Zeit entstandenen Antigen-Antikörper-Komplex präzipitiert man durch Zugabe von Antikörper II im Überschuß. Nach Erreichen eines Äquilibriums nach etwa 72 Stunden wird das Inkubat zentrifugiert, der Überstand abdekantiert und das Präzipitat im Gamma-Zähler gezählt.

Gibt man ein nicht markiertes ("kaltes") Referenzhormon dem Antigen-Antikörper I System zu, dann muß das radioaktiv markierte Hormon mit dem nicht markierten Referenzhormon um den Antikörper konkurrieren (kompetitive Bindung). Ein Antigen-Antikörper I - Antikörper II Präzipitat, welches neben dem markierten auch nicht markiertes Antigen gebunden enthält, wird also auf jeden Fall weniger radioaktiv sein, als das Präzipitat der spezifischen Bindung. Durch Zugabe von bekannten unterschiedlichen Mengen von "kaltem" Referenzhormon zum Antigen-Antikörper I System resultiert bei Konstanthaltung der Antikörpermenge und der Menge "heißen" Antigens eine Standardkurve. Dabei wird die Radioaktivität einer Probe um so geringer sein, je mehr "kaltes" Hormon zugefügt wurde. Der Hormongehalt unbekannter Serumproben kann auf diese Weise leicht

an der Standardkurve abgelesen werden.

Zur Messung von Ratten-FSH und Ratten-Prolaktin wurden in dieser Studie doppelantikörper-radioimmunologische Bestecke des National Institute of Health (NIH) benutzt (Daane und Parlow 1969, Niswender et al. 1969), zur Messung von Ratten LH wurde ein heterologes Bestimmungssystem von Reichert (LER-ovine-LH zur Markierung) und Niswender (GDN-ovine-antiserum Nr. 15) verwandt (Monroe et al. 1969, Niswender et al. 1968). Die Bestimmung von LH und Prolaktin erfolgte in jeweils 50 µl und 100 µl, die Bestimmung von FSH in 200 µl Serumproben. Alle Meßwerte sind in NIAMDD-RP-1 Standardreferenzwerten ausgedrückt.

2. Steroidbestimmung

Im Gegensatz zu den Gonadotropinen und zum Prolaktin sind die Steroide nicht artspezifisch. Antikörper gegen Steroide können daher nur dann gewonnen werden, wenn das Steroid zur Immunisierung an ein Protein gekoppelt wird. Da diese Antikörper nicht nur mit dem betreffenden Steroid, sondern auch mit im Blut vorhandenen Proteinen kreuzreagieren können, müssen die zu messenden Serumproben zuvor mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert werden. Steroide sind als Lipide leicht in organischen Lösungsmitteln, wie Diäthyläther oder Petroläther löslich, Proteine jedoch bleiben in der wäßrigen Serumphase zurück.

Nach Gefrieren der wäßrigen Phase in einer Kältelösung von Trockeneis und Methanol, kann die Ätherphase mit dem darin gelösten Steroid in ein Teströhrchen abgegossen werden. Dort wird es im Wasserbad eingedampft und mit Gelatine Phosphat Puffer (GPB) wieder aufgelöst. Als radioaktives Antigen dient Tritium (^3H)-markiertes Steroidhormon. Der Antikörper wird mit dem markierten und unmarkierten Antigen über Nacht inkubiert. Zur Trennung des Antikörper-gebundenen Hormons vom freien Hormon wird eine Holzkohle-Dextran-Lösung verwandt, die das freie Hormon adsorbiert. Da die Bindungsfähigkeit des Antikörpers bei 4^{o} C am höchsten ist, sollen alle Inkubationsschritte im Kühlschrank oder im Eisbad erfolgen. Das Reaktionsgemisch wird dann zentrifugiert, wobei sich die Holzkohle mit dem adsorbierten freien Hormon absetzt. Der Antigen-Antikörper Komplex wird im Überstand in ein Zählröhrchen abgegossen, mit Szintillatorflüssigkeit versetzt und in einem Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen. Zur Bestimmung von Progesteron, Östradiol und Testosteron wurde die Methode von Thorneycroft und Stone (1972) leicht abgewandelt. Als Antikörper dienten Anti-Progesteron 11 alpha-succinyl-BSA (von Hasan, Schering, Berlin; die Kreuzreaktion mit 11-Desoxycorticosteron betrug 35%), Anti-3-KLH-Östradiol (von Doerr), sowie Anti-3-Testosteron-BSA (von Doerr; die Kreuzreaktion mit Dihydrotestosteron betrug 70%; siehe auch Pirke, 1973). Als Szintillatorflüssigkeit wurde Unisolve 1 (Firma Werner Zinsser) verwandt.

E. Statistische Analysen

Zur Analyse der Ergebnisse wurden die Varianzanalyse und der t-Test von Student als statistische Verfahren herangezogen.

III. Ergebnisse

1. Jungtiere

a. Aufstellung von Hormonprofilen

Auf den Abbildungen 1 bis 6 sind die Serum-Hormonwerte von jungen Ratten vom Tag der Geburt bis zur Pubertät gezeigt. Die Werte wurden bei Männchen und Weibchen am 1., 2. und 3. Tag nach der Geburt und danach alle zwei Tage bis zum 39. Tag gemessen. Die Werte der Männchen wurden auch weiterhin im 2-Tagesrhythmus gemessen. Die Weibchen wurden nach Öffnen der Vagina (im Durchschnitt am 40. Lebenstag) während ihres ersten Zyklus ihrem vaginalen Abstrich entsprechend zusammengefaßt.

Luteinisierendes Hormon (LH): Die Werte der Weibchen lagen in den ersten Lebenstagen bei etwa 50 ng LH/ml Serum und waren etwa doppelt so hoch, wie die der Männchen (Abb. 1). Bei den Männchen blieben die Werte während der gesamten Entwicklungszeit nur geringen Schwankungen unterworfen. Bei den Weibchen zeigte sich zwischen dem 11. und 23. Tag ein eigenartiges Bild. Etwa 30% hatten mit über 1000 ng/ml Serum extrem hohe LH-Werte, weitere 30% hatten

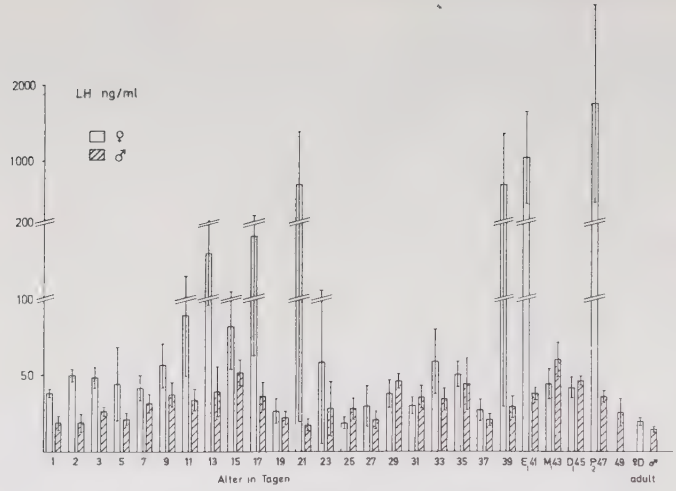

Abb. 1: Serum LH-Werte bei heranwachsenden weiblichen und männlichen jungen Ratten. Bei den weiblichen Ratten sind die unregelmäßig hohen Mittelwerte mit den hohen Standardfehlern zwischen dem 11. und dem 23. Tag zu beachten. Relativ geringe Fluktuationen treten bei den männlichen Ratten auf. Die Ordinate gibt das Alter in Tagen an. Sie ist nicht linear. Zeichenerklärung für diese und die folgenden 5 Abbildungen: E_1 = 1. Östrustag (Tag der vaginalen Öffnung), M_1 = 1. Metöstrustag, D_1 = 1. Diöstrustag, P_2 = 2. Proöstrustag (1. Proöstrustag nach vaginaler Öffnung), D adult = Diöstrus beim adulten Rattenweibchen. Der Standardfehler des Mittelwertes ist auf dieser und auf den folgenden Abbildungen auf der betreffenden Säule eingetragen.

mit etwa 100 ng/ml leicht erhöhte Werte und bei den restlichen 40% ließen sich nur niedrige Werte um 20 - 30ng/ml feststellen. Dies ist der Grund weshalb die Standardfehler der Mittelwerte in dieser Periode so hoch sind. Nach dem 23. Tag sank bei den Weibchen die LH Sekretion. Erst kurz vor dem Zeitpunkt der vaginalen Öffnung wurden bei einigen Weibchen wieder extrem hohe Werte gemessen. Auch am Tag der vaginalen Öffnung - an diesem Tag war meist ein östrischer, seltener ein proöstrischer Vaginalabstrich festzustellen - lagen die LH Werte mit über 1000 ng/ml Serum bei vielen Tieren hoch. Niedrige Werte um 30 bis 40 ng/ml lagen im Metöstrus und im Diöstrus vor. Am darauffolgenden Proöstrustag wurden bei 70% der Tiere hohe LH Werte gemessen, bei 30% jedoch niedrige.

Follikel stimulierendes Hormon (FSH): Während der ersten Lebenstage lagen die FSH Werte der Weibchen mit 400 bis 600 ng/ml Serum etwa doppelt so hoch, wie die der Männchen und erreichten Höchstwerte (900 $\pm$ 105 ng/ml) zwischen dem 9. und dem 17. Tag (Abb. 2). Danach fielen sie steil ab auf 130 $\pm$ 10 ng/ml und erreichten erst zur Zeit der vaginalen Öffnung wieder höhere Werte (400 $\pm$ 120 ng/ml), denen normale östruszyklische Schwankungen folgten. Bis zum 23. Tag waren die Werte der Männchen konstant niedrig (um 200 ng/ml). Danach stiegen sie deutlich an, zeigten mehr als doppelt so hohe Werte wie die der gleichaltrigen Weibchen und erreichten Höchstwerte von 490 $\pm$ 30 ng/ml

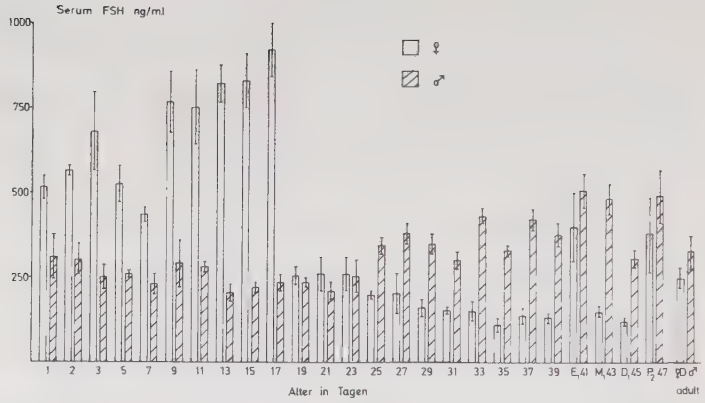

Abb. 2: Serum FSH Werte bei heranwachsenden jungen Ratten. Die Weibchen zeigen hohe, aber abfallende Werte während der ersten Woche. Sehr hohe Werte treten zwischen dem 9. und 17. Tag auf. Danach sind die Werte der Weibchen bis zum Tag der vaginalen Öffnung niedrig. Die Männchen zeigen bis zum 21. Tag niedrige Werte, die danach kontinuierlich ansteigen.

Serum während der peripuberalen Zeit (etwa zwischen dem 39. und 45. Tag).

Prolaktin (Abb. 3): Während der ersten 3 Wochen nach der Geburt waren die Serum Prolaktinwerte bei Männchen und

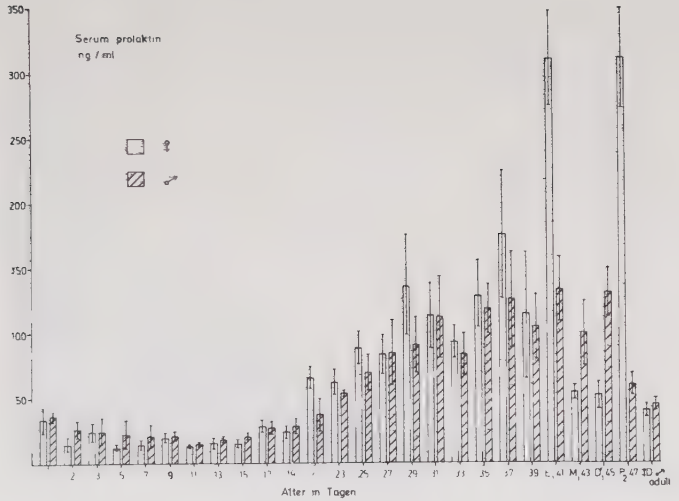

Abb. 3: Serum Prolaktin bei heranwachsenden jungen Ratten. Die Werte bei den Weibchen und Männchen sind zunächst niedrig, doch sie steigen bei beiden Geschlechtern nach der 3. Woche an und erreichen Höchstwerte kurz vor der Pubertät. Auch am Tag der vaginalen Öffnung liegen hohe Werte vor.

Weibchen niedrig (20 bis 30 ng/ml). Danach stiegen sie bei beiden Geschlechtern kontinuierlich an und erreichten Höchstwerte von 170 $\pm$ 50 ng/ml während der peripuberalen Phase. Bei den Weibchen war die Prolaktinausschüttung nach Öffnen der Vaginen den Schwankungen des Östruszyklus unterworfen.

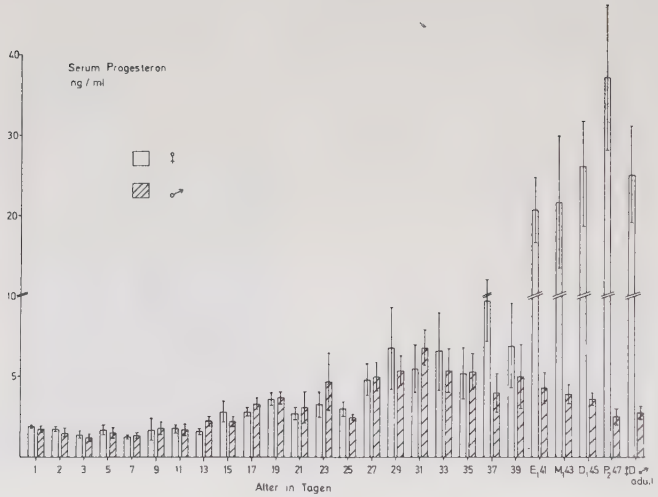

Abb. 4: Serum Progesteron ist bei heranwachsenden jungen Ratten während der ersten beiden Wochen niedrig und steigt dann bei beiden Geschlechtern kontinuierlich an. Die Werte der Männchen fallen vor der Pubertät wieder ab, die der Weibchen steigen zur Pubertät steil an.

Progesteron (Abb. 4): Bei beiden Geschlechtern wurden während der ersten beiden Lebenswochen niedrige Progesteronwerte (1 bis 2 ng/ml) im Serum gemessen. Danach stiegen sie an und waren während der nächsten 3 Wochen deutlich höher (bis zu 7 ± 3 ng). Während die Serum Progesteronspiegel bei den Weibchen am Tag der vaginalen Öffnung und während des ersten Zyklus mit 20 bis 40 ng/ml bedeutend höher waren, als zuvor, fielen die Werte der Männchen zur peripuberalen Zeit hin ab.

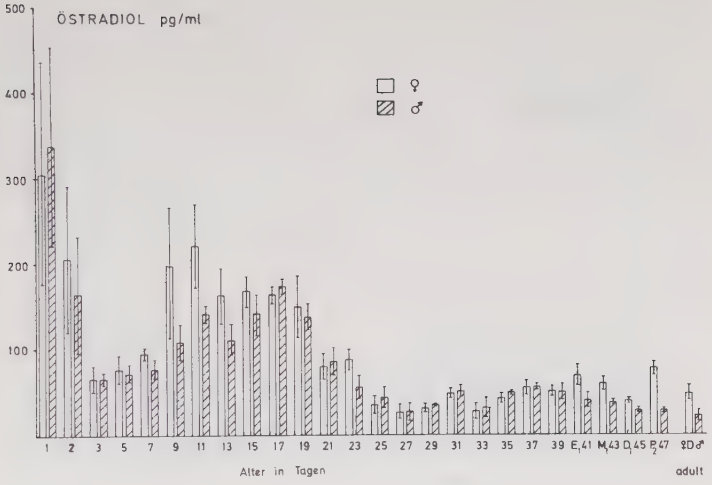

Abb. 5: Die Östradiolwerte im Serum neugeborener Ratten sind bei Männchen und Weibchen sehr hoch. Sie fallen dann zunächst ab, steigen aber am 9. Tag bei beiden Geschlechtern wieder an und bleiben bis zum 19. Tag erhöht. Danach sind die Werte niedrig und zeigen bis zur Pubertät nur geringe Schwankungen.

Östradiol (Abb. 5): An den ersten beiden Tagen nach der Geburt waren die Östradiolwerte bei Männchen und Weibchen hoch (über 300 pg/ml Serum am 1. Tag). Sie fielen dann zunächst auf 66 $\pm$ 16 pg/ml ab, doch stiegen sie bei beiden Geschlechtern zu Beginn der zweiten Lebenswoche wieder an und bleiben für etwa 2 Wochen relativ hoch (150 bis 200 pg/ml). Danach sanken die Östradiolwerte im Serum

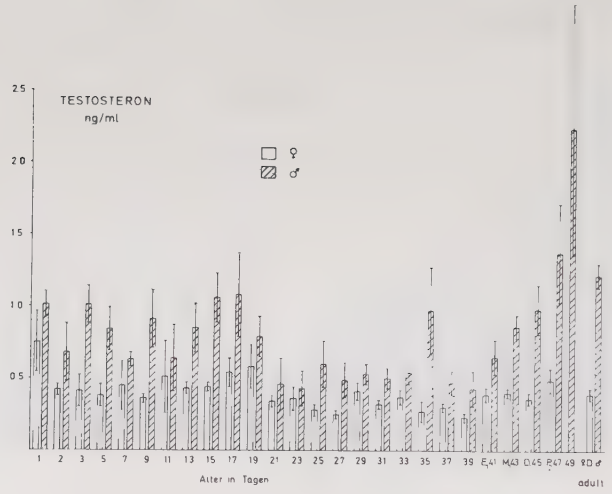

Abb. 6: Die Serum Testosteronwerte sind bei heranwachsenden jungen weiblichen Ratten stets niedrig. Bei den männlichen Ratten sind die Testosteronwerte im Serum vom Tag der Geburt bis zum 19. Tag signifikant höher, als bei den Weibchen, fallen aber danach auf etwa gleiche Werte ab. In der Zeit vor der Pubertät steigen die Werte der Männchen steil an.

auf 25 ± 10 pg/ml und waren bei den Weibchen erst nach Öffnen der Vaginen wieder mäßig erhöht (69 ± 7 pg/ml). Bei den Männchen bleiben sie auch während der peripuberalen Phase niedrig.

Testosteron (Abb. 6): Die weiblichen Tiere hatten während

ihrer gesamten Entwicklungsphase mit 0,3 bis 0,6 ng/ml niedrige Testosteronwerte im Serum. Die Werte der Männchen lagen während der ersten 19 Lebenstage etwa doppelt so hoch wie die der Weibchen, fielen dann ab auf Werte um 0,4 ng/ml, blieben für ca. 20 Tage niedrig und stiegen dann zu Beginn der peripuberalen Phase rapide an (2,2 ± 0,9 ng/ml am 49. Tag).

b. Tagesrhythmik

Zur Klärung der Frage nach der Existenz einer Tagesrhythmik bei der Hormonausschüttung von Jungtieren wurden stellvertretend für das gesamte Altersspektrum 2 Altersgruppen herausgestellt. Die eine Gruppe umfaßte Tiere im Alter von 13 bis 18 Tagen, die zweite umfaßte Tiere im Alter von 25 bis 30 Tagen.

Luteinisierendes Hormon: Bei den jüngeren Weibchen ist eine tageszeitlich bedingte Schwankung der LH Werte deutlich zu erkennen (Abb. 7). Um 3 Uhr und um 15 Uhr wurden nicht nur die absolut höchsten Werte gemessen (bis zu 3000 ng/ml Serum), sondern alle Werte waren zu diesen Zeiten erhöht. Auch bei den Männchen dieser Altersstufe waren die Serum-LH-Spiegel um 3 Uhr (137 ± 26 ng/ml) und um 15 Uhr (131 ± 38 ng/ml) höher als zu anderen Tageszeiten (38 bis 48 ng/ml). Sie waren jedoch weitaus nicht so deutlich ausgeprägt wie bei den Weibchen (713 ± 328 ng/ml, bzw. 645 ± 173 ng/ml).

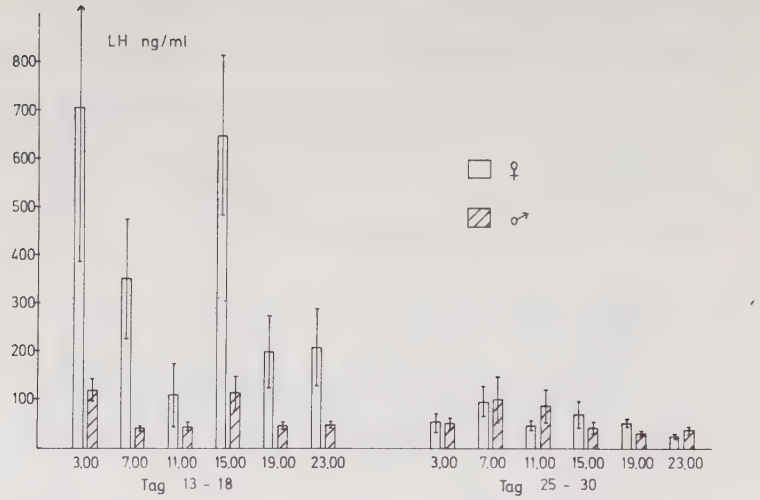

Abb. 7: Serum LH im Tagesprofil bei heranwachsenden jungen weiblichen und männlichen Ratten. Die jüngere Gruppe umfaßt Tiere im Alter von 13 bis 18 Tagen, die ältere umfaßt Tiere im Alter von 25 bis 30 Tagen. In dieser und den nächsten 4 Abbildungen sind die Tageszeiten auf der Ordinate aufgetragen. In der jüngeren Gruppe sind die LH Werte bei Weibchen und Männchen jeweils um 3 Uhr und um 15 Uhr deutlich erhöht.

Bei den älteren Tieren (25 bis 30 Tage alt) lagen sowohl bei den Weibchen, als auch bei den Männchen nur Basiswerte von LH vor. In dieser Gruppe war eine Rhythmik bei der LH-Ausschüttung - möglicherweise aufgrund der allgemein niedrigen, in manchen Fällen kaum meßbaren Werte (weniger als 10 ng/ml) - nicht festzustellen.

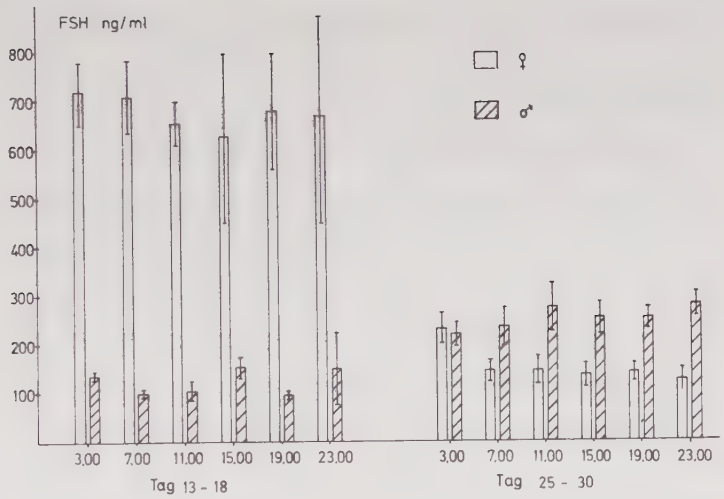

Abb. 8: Serum FSH im Tagesprofil bei heranwachsenden jungen Ratten. Die FSH Werte der jüngeren Weibchen sind signifikant höher, als die Werte bei den älteren. Die FSH Werte der jüngeren Männchen sind signifikant niedriger, als die der älteren. Alle FSH Profile zeigen ausgeglichene Tageswerte.

Follikel stimulierendes Hormon (Abb. 8): Während des gesamten Tagesverlaufes waren die FSH Werte der 13 bis 18 Tage alten Weibchen bedeutend höher (600 bis 700 ng/ml) als die der gleichaltrigen Männchen (100 bis 150 ng/ml). Weder Weibchen, noch Männchen zeigten tageszeitliche Schwankungen. Bei den 25 bis 30 Tage alten Tieren hatten

die Männchen durchweg höhere FSH Werte als die Weibchen, mit Ausnahme von 3 Uhr nachts. Nur zu dieser Zeit waren die Werte der Weibchen mit 233 ± 35 ng/ml so hoch wie die der Männchen (220 bis 280 ng/ml). Eine Tagesperiodik bei der FSH Ausschüttung war bei den Männchen dieser Altersstufe nicht festzustellen, bei den Weibchen lagen die Werte um 3 Uhr nachts signifikant höher als während des übrigen Tages (124 bis 145 ng/ml).

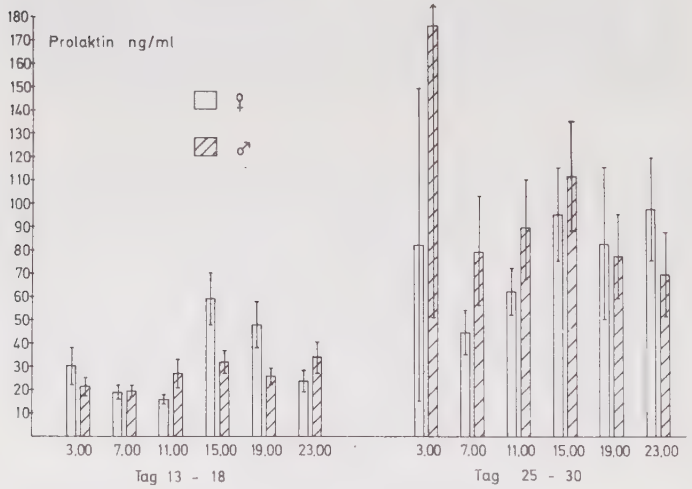

Abb. 9: Serum Prolaktin im Tagesprofil bei heranwachsenden jungen Ratten. Die Prolaktinwerte der älteren Tiere beiderlei Geschlechts sind signifikant höher als die der jüngeren Tiere. Die Werte der Weibchen sind bei beiden Gruppen vormittags niedriger als während des restlichen Tages.

Prolaktin (Abb. 9): Bei den 13 bis 18 Tage alten Tieren waren die Prolaktinwerte beider Geschlechter relativ niedrig (um 20 bis 30 ng/ml), zeigten aber bei den Weibchen eine signifikante Erhöhung zwischen 15 und 19 Uhr (48 bis 59 ng/ml). In der Gruppe der 25 bis 30 Tage alten Tiere waren die Prolaktinwerte bei Männchen und bei Weibchen höher. Obwohl bei den Männchen die Mittelwerte um 3 Uhr (184 ng/ml) und um 15 Uhr (105 ng/ml) erhöht waren, konnte aufgrund der hohen Standardfehler (± 130 ng/ml um 3 Uhr) keine Signifikanz festgestellt werden. Bei den Weibchen dieser Altersstufe lagen die Vormittagswerte mit 45 bzw. 62 ng/ml signifikant niedriger als die Werte am Nachmittag und Abend (78 bis 97 ng/ml).

Progesteron (Abb. 10): Die Progesteronwerte der jüngeren Tiere lagen mit Mittelwerten zwischen 1,2 und 3,5 ng/ml niedriger als die der älteren (Mittelwerte zwischen 1,2 und 7,1 ng/ml). Dabei waren keine Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen festzustellen. Um 3 Uhr nachts waren die Werte in beiden Altersgruppen bei beiden Geschlechtern signifikant niedriger (Mittelwerte zwischen 1,2 und 1,9 ng/ml) als während des restlichen Tages.

Testosteron (Abb. 11): Die Testosteronwerte der weiblichen Tiere waren in beiden Altersgruppen niedrig (250 bis 400 pg/ml) und unterlagen keinen tageszeitlich bedingten Schwankungen. Die Werte der jüngeren Männchen lagen höher,

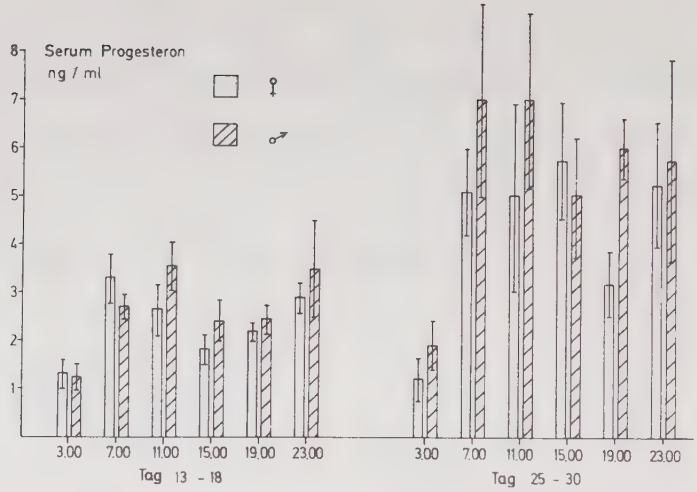

Abb. 10: Serum Progesteron im Tagesprofil bei heranwachsenden jungen Ratten. Die Werte der älteren Tiere sind bei beiden Geschlechtern signifikant höher als die Werte der jüngeren Tiere. Um 3 Uhr ist das Progesteron im Serum der Weibchen und Männchen beider Altersgruppen niedriger als während des restlichen Tages.

als die der älteren und hatten Höchstwerte um 3 Uhr (780 ± 200 pg/ml) und um 15 Uhr (830 ± 70 pg/ml), sowie Tiefstwerte um 11 Uhr (470 ± 60 pg/ml) und um 23 Uhr (470 ± 70 pg/ml). In der Gruppe der älteren Männchen waren die Werte um 11 Uhr am höchsten (680 ± 80 pg/ml).

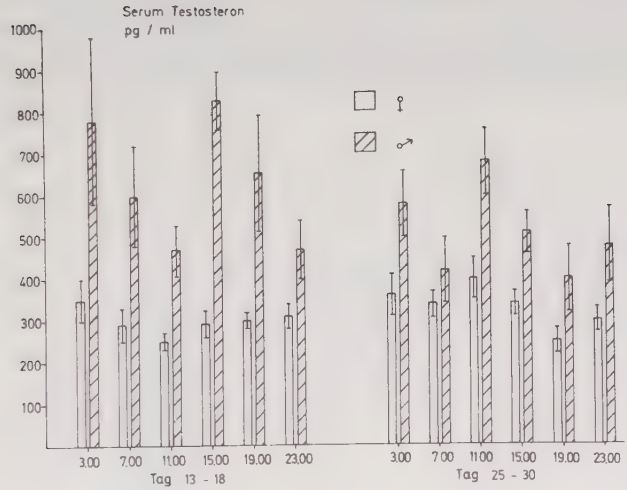

Abb. 11: Serum Testosteron im Tagesprofil bei heranwachsenden jungen Ratten. Die Werte der Männchen sind in beiden Altersgruppen höher als die der Weibchen. Die Werte der jüngeren Männchen sind höher als die der älteren und zeigen Höchstwerte um 3 Uhr und um 15 Uhr. Bei den älteren Männchen sind die Testosteronwerte um 11 Uhr leicht erhöht.

c. Prolaktin Behandlung

Die Behandlung mit 2 x 0,5 µg Prolaktin pro g Körpergewicht täglich vom 8. bis 25. Lebenstag hatte eine verfrühte Pubertät, gemessen am Öffnen der Vaginen der Weibchen, zur Folge. Die Vaginen der weiblichen Tiere öffneten sich

ca. 5 Tage früher als bei den Kontrolltieren (Tabelle III). Die bei den Kontrollweibchen aufgetretenen sporadischen LH Erhöhungen am 15. Tag waren bei den mit Prolaktin behandelten Tieren völlig blockiert (Abb. 12).

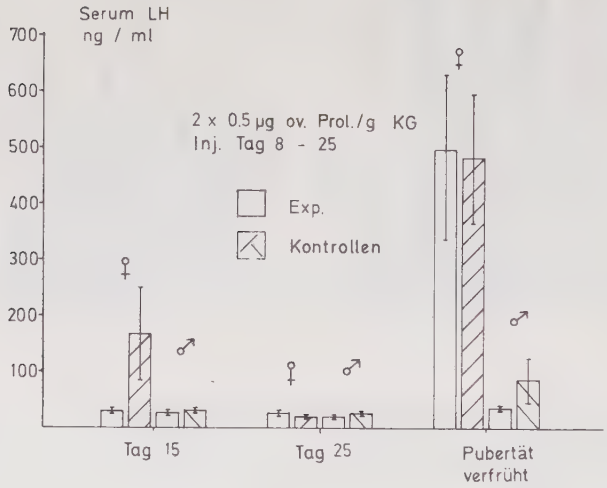

Abb. 12: LH im Serum heranwachsender junger Ratten nach Prolaktinbehandlung. 0,5 µg ovines Prolaktin pro g Körpergewicht wurden jungen Ratten zwischen dem 8. und dem 25. Lebenstag 2 x täglich injiziert. Diese Behandlung hatte eine verfrühte Pubertät zur Folge. In dieser und den folgenden 9 Abbildungen wurden die Serumproben der Weibchen jeweils am 2. Proöstrustag nach Öffnen der Vagina, die der Männchen am 45. Lebenstag entnommen. Während der Prolaktinbehandlung blieben die LH-Werte bei beiden Geschlechtern niedrig. Die Kontrollweibchen zeigten sporadisch Höchstwerte am 15. Tag. Die LH-Werte zur Pubertät waren normal.

Tabelle III: Einfluß exogener Prolaktinbehandlung, oder Hemmung der endogenen Prolaktinausschüttung mit CB 154 auf den Zeitpunkt der vaginalen Öffnung bei weiblichen Ratten.

Behandlung	Tag der vaginalen Öffnung
2 x tägl. 0,06 µg CB 154 vom 18. Tag bis zum Tag der vaginalen Öffnung	38,8 ± 0,5*
2 x tägl. 0,05 µg ovines Prolaktin vom 8. bis 25. Tag	34,8 ± 1,4**
2 x tägl. NaCl*** vom 8. bis 25. Tag oder vom 18. Tag bis zum Tag der vag. Öffnung	41,3 ± 1,0

* Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes

** signifikant früher als Kontrolltiere ($p < 0,001$)

*** NaCl Behandlung vom 8. bis 25. Tag und vom 18. Tag bis zum Tag der vaginalen Öffnung zeigte keinen unterschiedlichen Effekt auf den Zeitpunkt der vaginalen Öffnung. Daher wurden beide Behandlungsgruppen für die Auswertung zusammengelegt.

Trotz verfrühter Pubertät waren die proöstrischen LH Werte (496 ± 163 ng/ml) durch die Behandlung nicht beeinflußt. Bei den Männchen waren keine Unterschiede im Serum LH Gehalt durch die Behandlung festzustellen.

Die FSH Ausschüttung (Abb. 13) war bei den Weibchen zu keinem Zeitpunkt beeinflußt. Bei den Männchen waren die FSH Werte der behandelten Tiere am 15. Tag (57 ± 6 ng/ml) und am 45. Tag (99 ± 17 ng/ml) signifikant erniedrigt ($p < 0{,}005$).

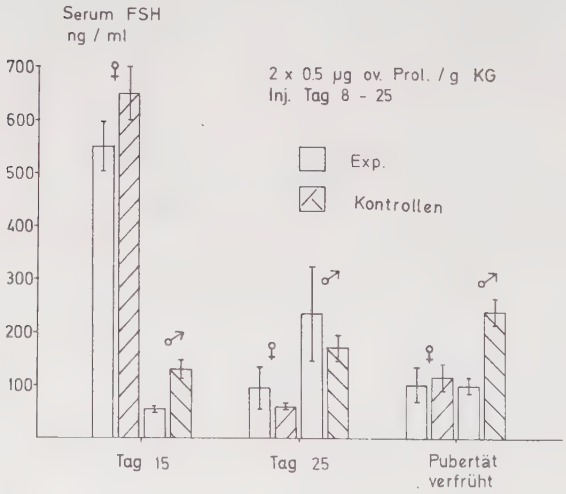

Abb. 13: FSH im Serum heranwachsender junger Ratten nach Prolaktinbehandlung. Die FSH Werte der Weibchen waren während der Prolaktinbehandlung und zur Pubertät normal. Die mit Prolaktin injizierten Männchen zeigten niedrigere FSH Werte als die Kontrollmännchen am 15. Tag und zur Pubertät.

Die Behandlung mit ovinem Prolaktin hatte eine verminderte endogene Prolaktinausschüttung zur Folge (Abb. 14). Männchen wie Weibchen wiesen am 25. Tag signifikant niedrigere Prolaktinwerte auf als die Kontrolltiere ($p < 0{,}005$). Nach diesem Tag wurde die Behandlung abgesetzt. Am 2. Proöstrustag nach vaginaler Öffnung waren die Prolaktinwerte der behandelten Weibchen (256 ± 62 ng/ml) nicht mehr von denen der Kontrolltiere verschieden (319 ± 40 ng/ml). Die Männchen jedoch erreichten am 45 Tag mit 182 ± 20 ng/ml signifikant höhere Werte ($p < 0{,}01$) als die Kontrolltiere (106 ± 21 ng/ml).

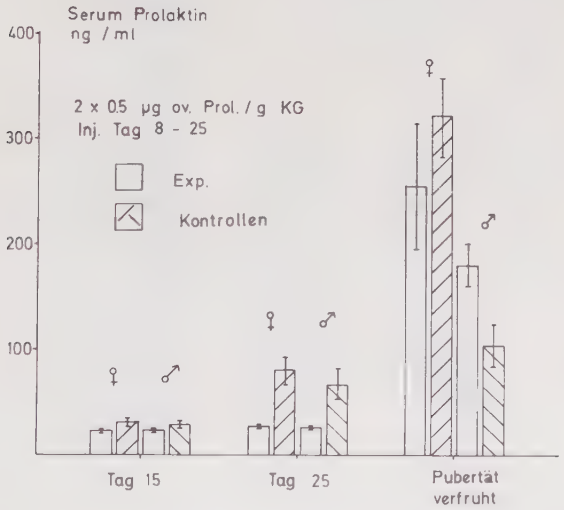

Abb. 14: Serum Prolaktin war während der Behandlung mit ovinem Prolaktin bei beiden Geschlechtern erniedrigt. Die weiblichen Proöstruswerte während der Pubertät waren normal, die Werte bei den Männchen lagen zu dieser Zeit höher als bei den Kontrollmännchen.

Die Progesteronwerte (Abb. 15) der Weibchen und Männchen waren am 15. Tag niedriger als bei den Kontrolltieren ($p < 0{,}005$). Am 25. Tag waren sie nur bei den Weibchen niedriger ($p < 0{,}005$), doch zur Pubertät waren sie bei Weibchen ($18{,}6 \pm 4{,}0$ ng/ml) und Männchen ($1{,}2 \pm 0{,}2$ ng/ml) normal.

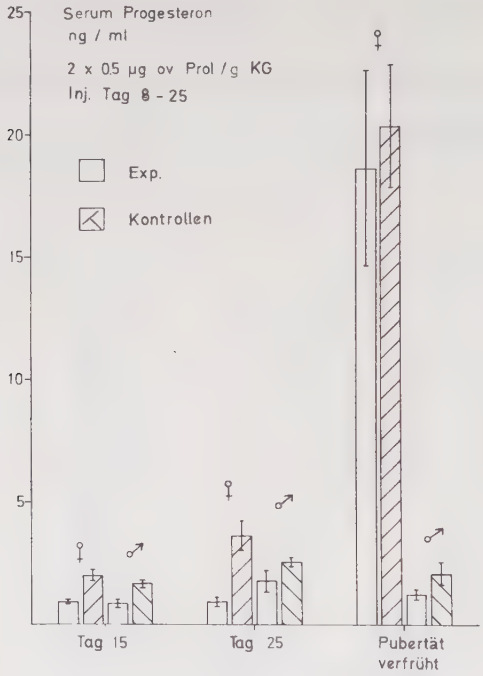

Abb. 15: Serum Progesteron war während der Prolaktinbehandlung bei Männchen und Weibchen erniedrigt. Die Werte zur Pubertät waren normal.

Die Östradiolwerte (Abb. 16) waren am 15. und am 25. Tag bei beiden Geschlechtern signifikant erniedrigt ($p < 0{,}005$), im Wesentlichen wurde jedoch ein ähnliches Östradiolprofil gefunden, wie bei den Kontrolltieren, nur auf niedrigerem Niveau. Zur Pubertät waren die Östradiolwerte bei Weibchen (78 ± 4 pg/ml) und Männchen (43 ± 2 pg/ml) normal.

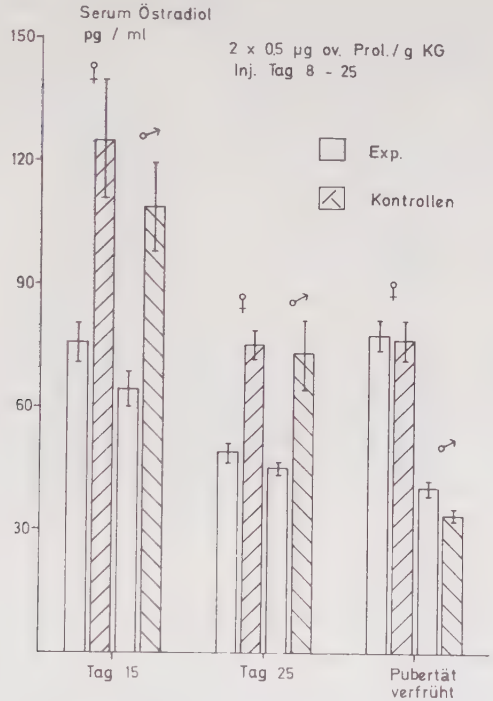

Abb. 16: Serum Östradiol war während der Prolaktinbehandlung bei beiden Geschlechtern erniedrigt, wies aber die gleiche zeitliche Tendenz auf wie bei den Kontrolltieren. Die Werte zur Pubertät waren normal.

d. CB 154 Behandlung

Während der Behandlung mit CB 154 wurde die endogene Prolaktinausschüttung gehemmt (Abb. 17). Männchen und Weibchen zeigten sowohl am 25. als auch am 35. Lebenstag signifikant

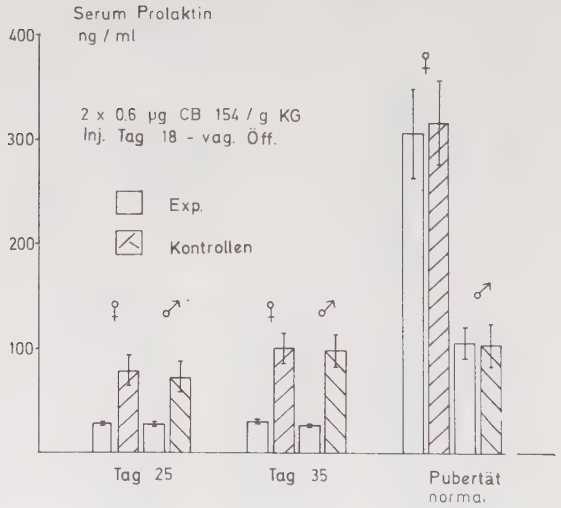

Abb. 17: Serum Prolaktin bei heranwachsenden jungen Ratten nach Behandlung mit CB 154. Die täglich zweimalige Behandlung mit 0,6 µg CB 154 pro g Körpergewicht vom 18. Tag bis zum Tag der vaginalen Öffnung (bei Männchen bis zum 40. Tag) hatte keinen Einfluß auf den Zeitpunkt der Pubertät. Bei Weibchen und Männchen waren die endogenen Prolaktinwerte während der Behandlung erniedrigt. Zur Pubertät waren sie jedoch wieder normal.

($p < 0,005$) niedrigere Prolaktinwerte im Serum (um 30 ng/ml) als die Kontrolltiere (70 bis 100 ng/ml). Die Pubertät dieser Tiere trat jedoch zum normalen Zeitpunkt ein (Tabelle III). Die CB 154-Behandlung beeinflußte die LH-Ausschüttung nicht (Abb. 18). Auch die FSH Ausschüttung wurde zumindest bei den weiblichen Tieren nicht beeinflußt (Abb. 19). Bei den Männchen lagen die FSH Werte der behandelten Tiere am 25. Tag jedoch mit 95 $\pm$ 20 ng/ml signifikant niedriger ($p < 0,05$) als die Werte der Kontrolltiere (181 $\pm$ 17 ng/ml).

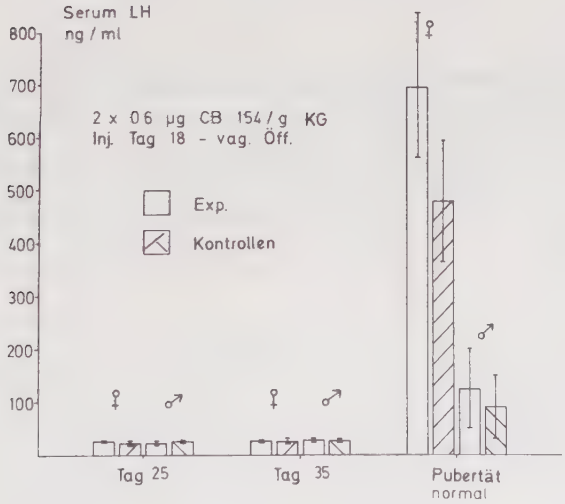

Abb. 18: Die Serum LH Werte heranwachsender junger Ratten wurden durch CB 154-Behandlung nicht beeinflußt. Auch die LH Werte zur Pubertät waren normal.

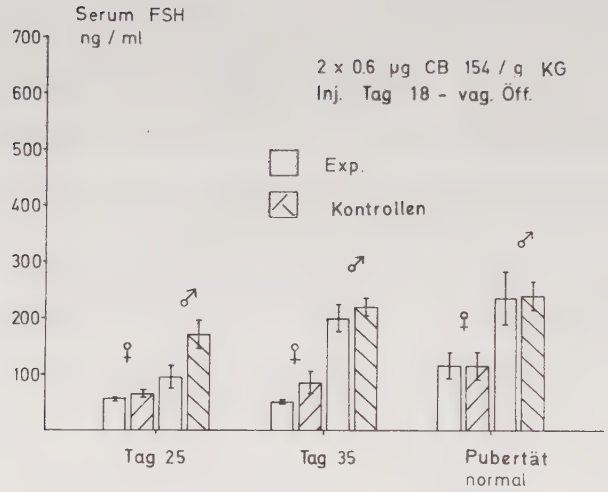

Abb. 19: Serum FSH bei heranwachsenden jungen Ratten nach CB 154-Behandlung. Die FSH-Werte der CB 154 behandelten Männchen lagen am 25. Tag niedriger als die der Kontrollmännchen. Alle anderen Werte, auch die der Weibchen, waren normal.

Die Progesteronwerte (Abb. 20) lagen bei den CB 154 behandelten Weibchen nur am 35. Tag niedriger (3,3 ± 0,5 ng/ml) als bei den Kontrollweibchen (10,7 ± 3,8 ng/ml). Die Werte bei den CB 154 behandelten Männchen waren am 25. und 35. Tag normal, lagen aber zur Pubertät mit 0,5 ± 0,1 ng/ml niedriger als bei den Kontrollmännchen (2,1 ± 0,4 ng/ml).

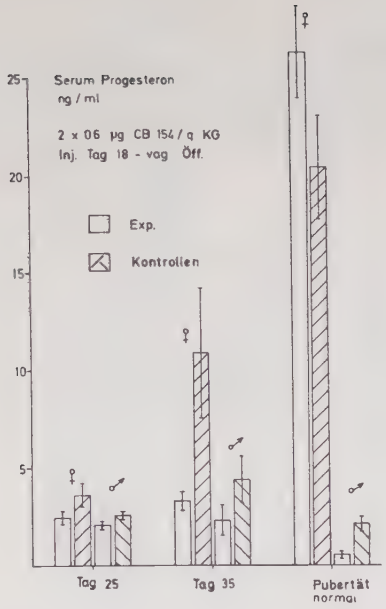

Abb. 20: Progesteron im Serum heranwachsender junger Ratten nach CB 154-Behandlung. Bei den weiblichen Tieren wurden nur am 35. Tag niedrigere Werte als bei den Kontrollweibchen sichtbar. Die Werte bei den Männchen lagen nur zur Pubertät niedriger.

Östradiol (Abb. 21) war am 25. und am 35. Tag bei beiden Geschlechtern erniedrigt ($p < 0{,}005$). Zur Pubertät war es jedoch bei beiden Geschlechtern höher als bei den Kontrolltieren ($p < 0{,}005$).

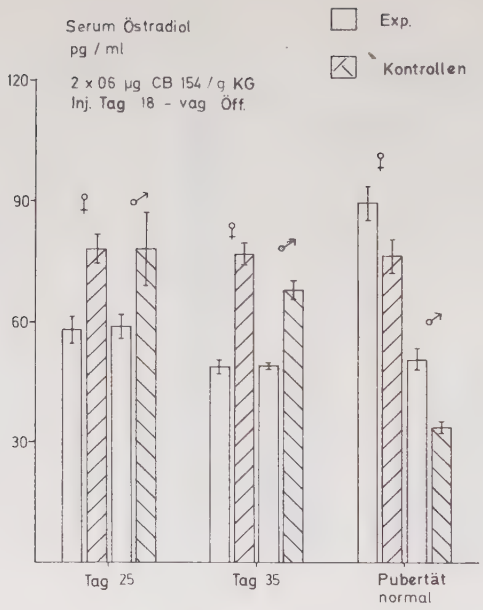

Abb. 21: Serum Östradiol wies am 25. und 35. Tag bei CB 154 behandelten Tieren niedrigere Werte auf als bei Kontrolltieren. Zur Pubertät erreichten die CB 154 behandelten Tiere jedoch höhere Östradiolwerte als die Kontrolltiere.

e. Maskulinisierung von Weibchen und Femininisierung von Männchen

Bei keinem der maskulierten Weibchen lag am 15. Tag eine LH Erhöhung vor (Abb. 22), im Gegensatz zu den Kontrollweibchen, von denen ca. 30% extrem hohe Werte aufwiesen (über 1000 ng/ml Serum). Weitere 30% hatten erhöhte Werte (über 100 ng/ml), und bei den restlichen 40% ließen

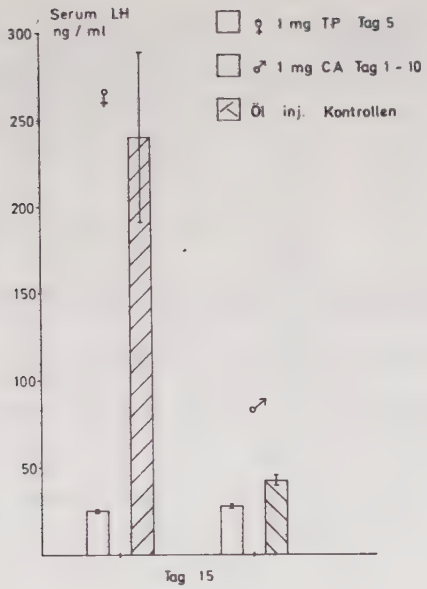

Abb. 22: Serum LH bei maskulierten weiblichen und femininisierten männlichen Ratten am 15. Lebenstag. Die Weibchen wurden durch eine Injektion von 1 mg Testosteronpropionat (TP) am 5. Lebenstag maskulinisiert, die Männchen wurden durch tägliche Injektionen von jeweils 1 mg Cyproteronacetat vom 1. bis zum 10. Lebenstag femininisiert. Im Vergleich mit den Kontrollweibchen hatten die maskulinisierten Weibchen bedeutend niedrigere LH Werte. Auch die LH Werte der femininisierten Männchen lagen etwas niedriger, als die Werte der Kontrollmännchen.

sich nur Basiswerte feststellen (10 bis 50 ng/ml). Die FSH Werte (Abb. 23) der maskulinisierten Weibchen (64 ± 8 ng/ml) waren nicht verschieden von den Werten der

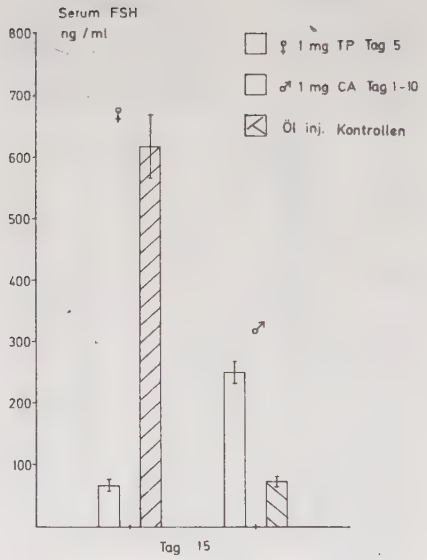

Abb. 23: Serum FSH bei maskulinisierten weiblichen und femininisierten männlichen Ratten. Die FSH Werte der maskulinisierten Weibchen waren am 15. Lebenstag signifikant niedriger, als die Werte normaler Weibchen. Die femininisierten Männchen erreichten signifikant höhere FSH-Werte als die normalen Männchen.

Kontrollmännchen (73 $\pm$ 9 ng/ml), doch sie lagen signifikant niedriger ($p < 0{,}001$) als die Werte der Kontrollweibchen (613 $\pm$ 52 ng/ml).

Die femininisierten Männchen hatten mit 28 $\pm$ 2 ng/ml signifikant niedrigere ($p < 0{,}05$) LH Werte (Abb. 22) als die

Kontrolltiere (43 ± 7 ng/ml). Ihre FSH Werte (Abb. 23) waren jedoch mit 248 ± 18 ng/ml Serum signifikant ($p < 0,001$) höher (73 ± 9 ng/ml).

2. Geschlechtsreife Tiere

a. Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung

Von den CB 154 behandelten Tieren wurden nur wenige nach der ersten Paarung gravide. Die meisten kamen in einen neuen Zyklus. Die Kontrolltiere hingegen wurden alle nach der ersten Paarung gravide. Nach wiederholten Paarungen wurden weitere CB 154 behandelte Tiere gravide und nach 5 Paarungen waren insgesamt 64% der behandelten Tiere gravide. Die restlichen 36% wurden vom weiteren Versuch ausgeschlossen. Ein Teil der Tiere durfte die Gravidität austragen und warf normale Junge. Die Prolaktinwerte dieser Tiere sind in Abb. 24 aufgezeigt. Während die Kontrolltiere im Zyklus stark erhöhte Proöstrus- (270 ± 35 ng/ml) und etwas erhöhte Östruswerte (110 ± 15 ng/ml Serum) zeigten, lagen bei den CB 154 behandelten Tieren zum Zeitpunkt der Blutentnahme nur Basiswerte von Prolaktin vor (30 bis 50 ng/ml Serum). Auch während der weiteren Zyklen und während der Gravidität waren die Prolaktinwerte der CB 154 behandelten Tiere niedrig (40 bis 70 ng/ml Serum). Die Kontrolltiere hingegen wiesen auch während der ersten Graviditätstage erhöhte Prolaktinwerte auf (um 150 ng/ml Serum). Die LH Werte im Serum wurden durch die CB 154

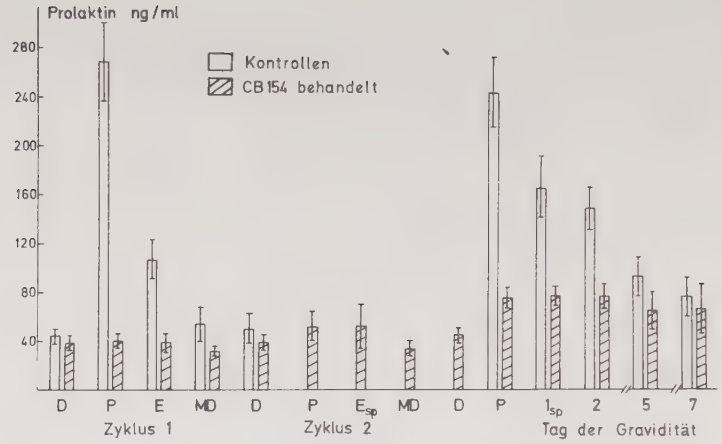

Abb. 24: Serum Prolaktin bei CB 154 behandelten adulten Ratten während des Zyklus und während der ersten Tage der Gravidität. Alle Kontrolltiere wurden nach der ersten Paarung gravide. Die meisten der CB 154-behandelten Tiere durchliefen nach der ersten Paarung einen oder mehrere weitere Zyklen, in denen sie stets gepaart wurden (E_{sp} = Spermatozoen in den vaginalen Abstrichen am Östrustag vorhanden). Diese Zyklen wurden auf der Abbildung in einem Zyklus zusammengefaßt (Zyklus 2). Die meisten der CB 154-behandelten Tiere wurden aber dennoch innerhalb von 5 durchlaufenen Zyklen gravide. Die erhöhten Prolaktinwerte der Kontrolltiere am Proöstrus- und Östrustag, sowie in den ersten Tagen der Gravidität waren bei den CB 154 behandelten Tieren nicht sichtbar. Zeichenerklärung: D = Diöstrus, P = Proöstrus, MD = Metöstrus, E = Östrus, 1_{sp} = erster Tag nach der Paarung, die zur Gravidität führte.

Behandlung nicht beeinflußt (Abb. 25). Bei Kontrolltieren und Versuchstieren ließen sich hohe Proöstruswerte feststellen (1600 bis 2000 ng/ml). Am Tag nach der Paarung wiesen bei beiden Gruppen einige Tiere erhöhte LH Werte auf. Alle weiteren Werte im Zyklus oder während der Gravidität waren niedrig (weniger als 40 ng/ml Serum).

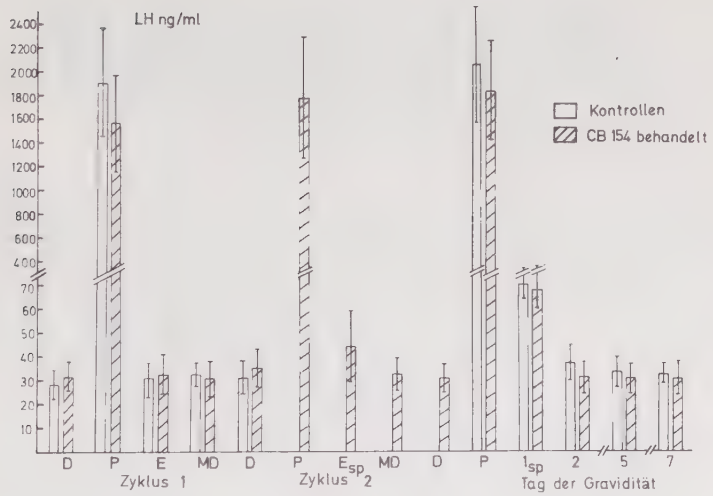

Abb. 25: Serum LH bei CB 154 behandelten adulten Ratten während des Zyklus und während der ersten Tage der Gravidität. Kontrolltiere und CB 154 behandelte Tiere zeigten erhöhte LH Werte am Proöstrustag und am ersten Tag der Gravidität. Weitere Erklärungen im Text der Abb. 24.

Während der ersten beiden Lebenstage traten bei den Jungen der CB 154 behandelten Ratten im Gewicht noch keine Unterschiede zu den Jungen der Kontrollratten auf (Abb. 26). Nach dem 3. Tag jedoch blieben die Jungen der CB 154 behandelten Mütter im Wachstum stark zurück und viele starben an Unterernährung. Die Prolaktinmessungen bei den CB 154 behandelten Müttern ließen auch in der Laktationsphase (Abb. 27) nur stark erniedrigte Werte sichtbar

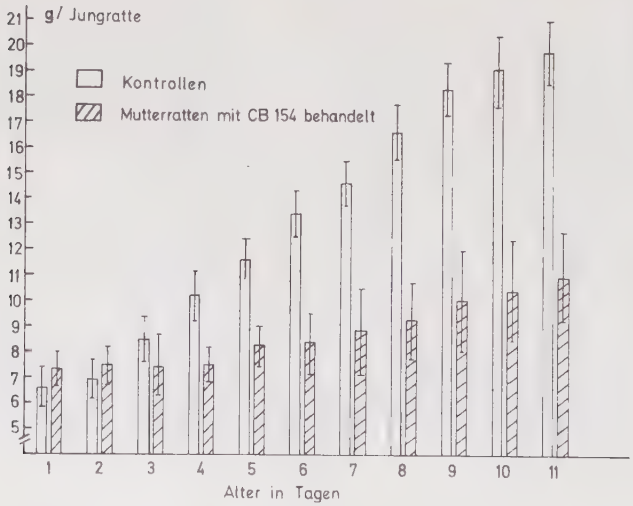

Abb. 26: Gewicht der Jungen von CB 154 behandelten laktierenden Ratten. Die Jungen der CB 154 behandelten laktierenden Ratten zeigten kontinuierliche Gewichtszunahme, diese blieb jedoch vom 3. Lebenstag an stark hinter der Gewichtszunahme der jungen Kontrollratten zurück.

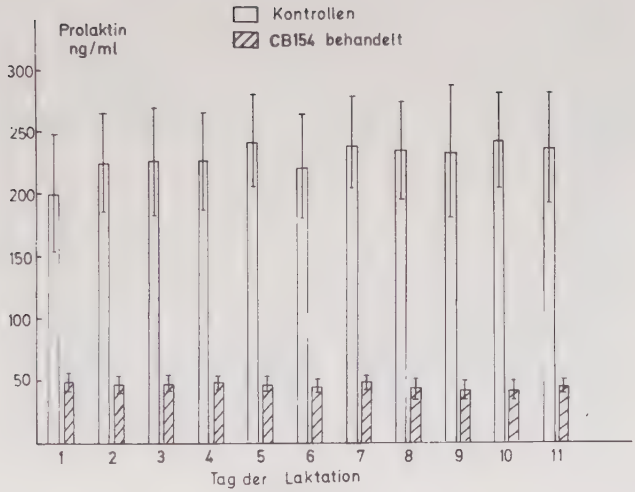

Abb. 27: Serum Prolaktin bei CB 154 behandelten laktierenden Ratten. Die Prolaktinwerte im Serum CB 154 behandelter laktierender Ratten waren konstant niedrig, die Werte der Kontrolltiere waren 4 bis 5 mal so hoch.

werden (um 40 ng/ml Serum). Die LH Werte hingegen waren nicht verschieden von denen der Kontrolltiere. Abb. 28 läßt für beide Gruppen am Tag nach dem Werfen erhöhte LH-Werte im Serum sichtbar werden (1630 ± 450 bzw. 1450 ± 430 ng/ml). An den darauffolgenden Tagen sind nur Basiswerte zu erkennen (um 30 ng/ml).

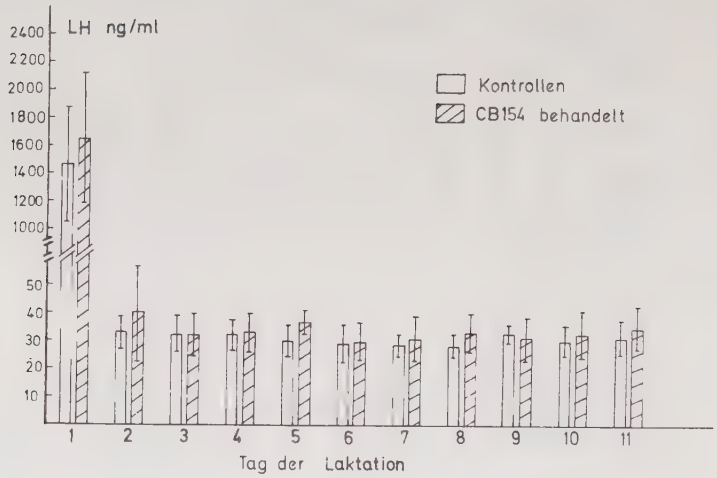

Abb. 28: Serum LH bei CB 154 behandelten laktierenden Ratten. Die CB 154-Behandlung hatte auf die LH Werte laktierender Ratten keine Wirkung. Zu beachten sind die erhöhten LH Werte am Tag der Geburt (erster Tag der Laktation) bei den Kontrolltieren, wie auch bei den CB 154 behandelten Tieren.

Abb. 29 macht deutlich, daß die Prolaktinwerte im Serum während der ersten 6 Graviditätstage höher liegen, als zwischen Tag 7 und 12. Weiterhin werden in den ersten 6 Tagen um 3 Uhr (145 $\pm$ 34 ng/ml) und zwischen 15 Uhr und 19 Uhr (100 $\pm$ 55 bzw. 93 $\pm$ 50 ng/ml) höhere Werte

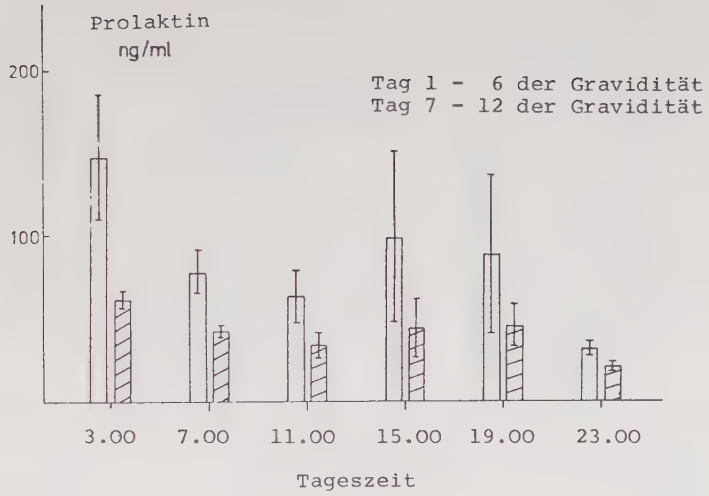

Abb. 29: Tagesprofil der Prolaktinausschüttung bei graviden Ratten. In den ersten 6 Tagen der Gravidität sind die Prolaktinwerte im Serum generell höher als zwischen dem 7. und 12. Tag. Ein semicircadianer Rhythmus bei der Prolaktinausschüttung ist zu Beginn der Gravidität zu erkennen, flacht aber nach dem 6. Tag ab.

im Serum sichtbar, als während des restlichen Tages (25 bis 75 ng/ml). Diese Tendenz ist auch zwischen Tag 7 und 12 zu erkennen, ist jedoch nicht mehr so deutlich ausgeprägt wie zuvor.

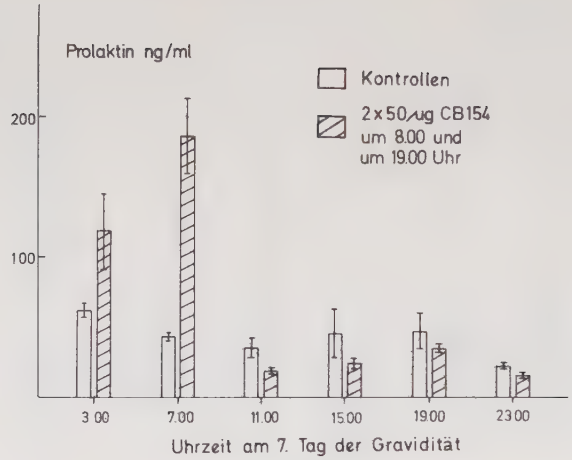

Abb. 30: Tagesprofil für Serum Prolaktin bei CB 154 behandelten Ratten am 7. Tag der Gravidität. Die Kontrolltiere wiesen um 3 und zwischen 15 und 19 Uhr leicht erhöhte Prolaktinwerte auf. Die Werte der CB 154 behandelten Ratten waren von 11 bis 23 Uhr niedrig, stiegen danach aber stark an. Um 3 Uhr lagen schon signifikant höhere Werte vor als bei den Kontrolltieren, und diese stiegen bis 7 Uhr sogar noch stark an.

Auf Abbildung 30 sollte sichtbar werden, ob die CB 154-Behandlung die Prolaktinausschüttung während des gesamten Tagesverlaufes hemmte. Dies war jedoch nicht der Fall. Die Werte der CB 154 behandelten Tiere waren zwar bis 23 Uhr niedrig (20 bis 30 ng/ml), aber um 3 Uhr (122 ± 27 ng/ml)

waren sie schon signifikant höher ($p < 0,01$) als die der Kontrolltiere (65 ± 8 ng/ml) und stiegen bis 7 Uhr sogar noch stark an (185 ± 25 ng/ml). Erst nach der CB 154-Injektion um 8 Uhr fielen sie wieder ab. Hiermit wurde deutlich, daß die zweimalige Injektion von 50 µg CB 154 nicht ausreichte, um die gesamte Prolaktinausschüttung während einer 24-Stunden-Spanne zu hemmen. LH und FSH zeigten keine Tagesschwankungen am 7. Tag der Gravidität und wiesen auch bei Kontrolltieren und CB 154 behandelten Tieren keine Unterschiede auf (Abb. 31). Die Progesteronwerte

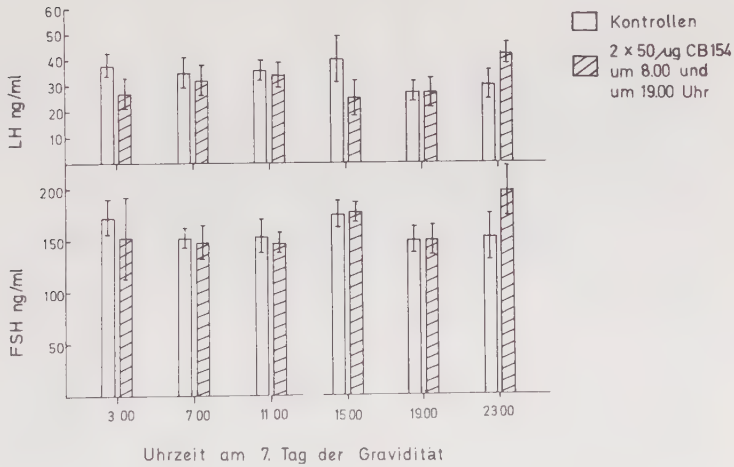

Abb. 31: Tagesprofile für Serum LH und FSH bei CB 154 behandelten Ratten am 7. Tag der Gravidität. Serum LH und Serum FSH waren bei den CB 154 behandelten Tieren nicht verschieden von den Werten der Kontrolltiere. Weder LH, noch FSH zeigten tageszeitlich bedingte Schwankungen.

der CB 154 behandelten Tiere lagen zu allen Zeiten niedriger als die der Kontrolltiere (Abb. 32). Außerdem war die Progesteronsekretion bei den Versuchstieren phasenverschoben. Bei ihnen lagen um 11 Uhr Tiefstwerte vor, während die Kontrolltiere um diese Zeit Höchstwerte erreichten.

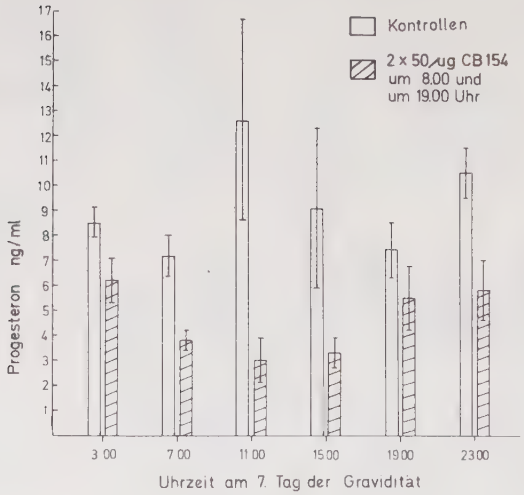

Abb. 32: Tagesprofil für Serum Progesteron bei CB 154 behandelten Ratten am 7. Tag der Gravidität. Die Progesteronwerte im Serum CB 154 behandelter gravider Ratten lagen niedriger als die Progesteronwerte im Serum von Kontrollratten. Die Kontrollratten ließen Höchstwerte um 11 Uhr und um 23 Uhr sichtbar werden. Die CB 154 behandelten Ratten wiesen während der Nacht höhere Werte auf als während des Tages.

b. Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung

Gruppe 1: Die CB 154 behandelten Tiere dieser Gruppe wurden mit erfahrenen Männchen gehalten. Am Östrusmorgen fanden sich bei allen Weibchen Spermatozoen in den vaginalen Abstrichen, ein Zeichen, daß Paarungen stattgefunden hatten. Die Ratten wurden jedoch weder gravide, noch pseudogravide. Sie kehrten alle in einen normalen Östruszyklus zurück und paarten sich in der nächsten Proöstrusnacht wieder mit den Männchen. Trotz vier mal wiederholter Paarung wurden diese Tiere nicht gravide und zeigten auch keine Uterusimplantationen am Tag der Untersuchung.

Gruppe 2: Serum Prolaktin der gepaarten Kontrolltiere (Abb. 33) wies während der ersten 4 Tage der Gravidität jeweils um 7 und um 16 Uhr hohe Werte auf (über 100 ng/ml), um 23 Uhr jedoch stets niedrige (unter 50 ng/ml). Die Serum LH Werte (Abb. 34) waren nach der Paarung um 7 Uhr (240 ± 50 ng/ml), sowie um 16 Uhr (88 ± 15 ng/ml) erhöht und blieben dann bis Tag 4 der Gravidität niedrig (weniger als 40 ng/ml). Die Serum Progesteronwerte (Abb. 35) lagen stets um 23 Uhr am höchsten ($p < 0,01$ am 1. und 2. Tag). Außerdem wurde ein stetiger Progesteronanstieg während dieser ersten 4 Graviditätstage gemessen (der 7 Uhr Wert am 4. Tag war gegenüber dem 7 Uhr Wert am 1. Tag signifikant erhöht; $p < 0,001$).

Gruppe 3: Die Serum Prolaktinwerte ungepaarter Kontrolltiere

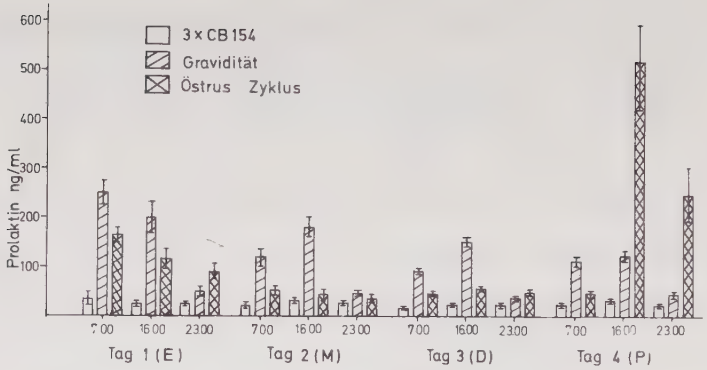

Abb. 33: Serum Prolaktin bei CB 154 behandelten gepaarten Ratten, bei gepaarten Kontrollratten und bei ungepaarten Kontrollratten. Die gepaarten Kontrollratten wurden alle gravide. Sie zeigten erhöhte Prolaktinwerte jeweils um 7 und um 16 Uhr während der ersten 4 Tage der Gravidität. Die ungepaarten Kontrollratten wiesen am Östrustag (E) erhöhte Prolaktinwerte mit abfallender Tendenz auf. Während des Metöstrus (M) und Diöstrus (D) waren ihre Werte niedrig, stiegen aber am Proöstrusnachmittag (P) steil an. Die CB 154 behandelten gepaarten Ratten waren 2 Tage lang gravide (siehe Erklärung im Text) und kamen am 4. Tag nach der Paarung wieder in den Proöstrus. Diese Tiere zeigten zu keiner Zeit erhöhte Prolaktinwerte. Auf dieser und auf den nächsten beiden Abbildungen sind auf der Abszisse die Zeiten der Blutentnahme im Zyklus, wie auch während der ersten 4 Tage der Gravidität aufgezeichnet.

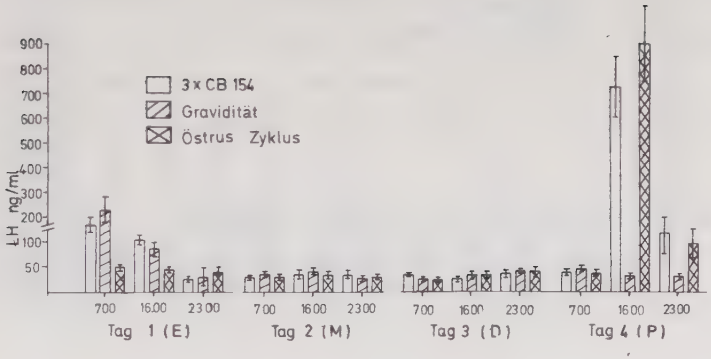

Abb. 34: Serum LH bei CB 154 behandelten gepaarten Ratten, bei gepaarten Kontrollratten und bei ungepaarten Kontrollratten. Nach der Paarung waren die LH Werte bei den CB 154 behandelten, wie auch bei den Kontrollratten erhöht. Sie blieben danach bei den graviden Ratten niedrig, stiegen bei den Ratten im Zyklus aber am Proöstrusnachmittag steil an (siehe auch weitere Erklärungen im Text der Abbildung 33).

im Östruszyklus sind auch in Abb. 33 zu ersehen. Erhöhte Werte liegen am Proöstrustag um 16 (510 ± 95 ng/ml) und um 23 Uhr (245 ± 50 ng/ml) vor. Auch am Östrustag war Prolaktin noch etwas erhöht, fiel jedoch bis zum Metöstrus auf Werte um 30 ng/ml ab. Serum LH (Abb. 34) erreichte

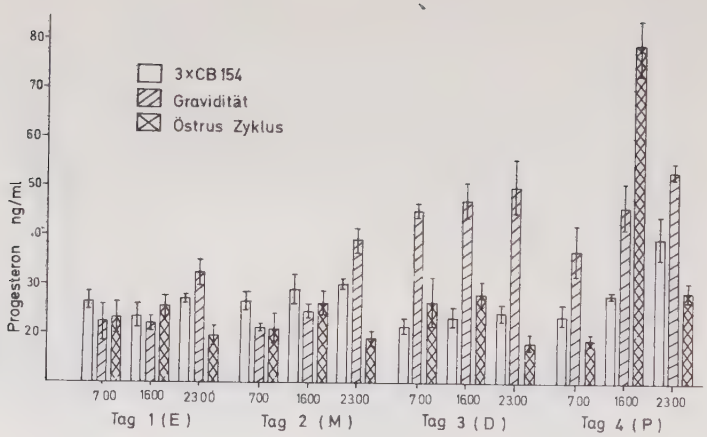

Abb. 35: Serum Progesteron bei CB 154 behandelten gepaarten Ratten, bei gepaarten Kontrollratten und bei ungepaarten Kontrollratten. Die graviden Kontrolltiere wiesen eine allmähliche Steigerung der Progesteronausschüttung auf mit Werten, die abends immer am höchsten lagen. Bei den ungepaarten Kontrolltieren war ein starker Progesteronanstieg am Proöstrusnachmittag festzustellen. Während der restlichen Zyklustage waren ihre Progesteronwerte niedrig. Die gepaarten, CB 154 behandelten Tiere hatten in den ersten 3 Tagen nach der Paarung niedrige Progesteronwerte. Bei ihnen lagen die Werte um 23 Uhr zwar niedriger als die Werte der graviden Kontrolltiere, doch sie waren in den ersten beiden Tagen nach der Paarung signifikant höher, als die 23 Uhr-Werte der Tiere im Zyklus. Am Nachmittag des 4. Tages nach der Paarung (bei diesen Tieren ein Proöstrustag), war bei den CB 154 behandelten gepaarten Ratten ein Progesteronanstieg im Serum zu erkennen, der jedoch signifikant niedriger war, als bei den proöstrischen Kontrolltieren. Außerdem war er zeitlich verzögert.

am Proöstrustag um 16 Uhr (930 ± 195 ng/ml) und um 23 Uhr (85 ± 25 ng/ml) die höchsten Werte im Zyklus. Diese präovulatorische LH Ausschüttung ging mit stark erhöhten Progesteronwerten einher (Abb. 35). Während der anderen Zyklustage wurden die höchsten Werte stets um 16 Uhr, die Tiefstwerte um 23 Uhr für Progesteron gemessen.

Gruppe 4: Die Prolaktinwerte der CB 154 behandelten gepaarten Tiere sind in Abb. 33 zu ersehen. Die CB 154-Behandlung hemmte jegliche phasische Prolaktinausschüttung wie z.B. den präovulatorischen Proöstrusanstieg, der bei den ungepaarten Kontrolltieren zu sehen ist ($p < 0{,}001$) und die erhöhte Prolaktinausschüttung bei den graviden Kontrolltieren um 7 und um 16 Uhr ($p < 0{,}001$). Die LH Werte im Serum dieser Tiere (Abb. 34) wiesen sowohl den postcoitalen Anstieg der gepaarten Kontrolltiere auf (183 ± 19 ng/ml) als auch den präovulatorischen Anstieg der ungepaarten Kontrolltiere (710 ± 140 ng/ml). Die Progesteronwerte im Serum waren bei diesen CB 154 behandelten, gepaarten Tieren bis um 16 Uhr des 2. Tages normal (Abb. 35). Um 23 Uhr des 2. Tages jedoch lagen sie mit 30 ± 1 ng/ml signifikant niedriger ($p < 0{,}01$) als die Werte bei den gepaarten Kontrolltieren (38,5 ± 2,5 ng/ml) doch signifikant höher ($p < 0{,}01$) als die entsprechenden Werte der ungepaarten Kontrolltiere im Östruszyklus (19 ± 1 ng/ml). Am 3. Tag waren die Progesteronwerte so niedrig wie Diöstruswerte (18 bis 26 ng/ml) und damit

signifikant niedriger ($p < 0,001$) als die Werte von Kontrollratten am 3. Tag der Gravidität (45 bis 50 ng/ml). Wie schon erwähnt, kamen die CB 154 behandelten gepaarten Tiere am 4. Tag nach der Paarung wieder in den Proöstrus. Soweit wurde festgestellt, daß diese Tiere am Proöstrusnachmittag zwar normal hohe LH Werte hatten, die Prolaktinwerte jedoch niedrig waren. In Abb. 35 ist zu ersehen, daß auch die Progesteronwerte bei diesen Tieren am Proöstrusnachmittag mit 27,5 $\pm$ 0,8 ng/ml bis 39,5 $\pm$ 4,5 ng/ml (um 23 Uhr) bedeutend niedriger sind als bei den proöstrischen Kontrolltieren, aber doch signifikant höher als am Diöstrustag ($p < 0,001$).

Gruppe 5: Tabelle IV zeigt die Wirkung auf die Gravidität, wenn die CB 154-Behandlung nach der Paarung abgebrochen wurde. Die Blockade nur des proöstrischen Prolaktinanstiegs hatte keinen Effekt auf die Gravidität, die in der darauffolgenden Nacht induziert wurde. Auch eine weitere Hemmung der Prolaktinausschüttung bis zu 2 Tagen nach der Paarung führte noch zu keinem Abbruch der Gravidität. Zehn von 16 Tieren blieben gravide, wenn die letzte CB 154-Injektion um 24 Uhr in der Nacht zwischen dem 2. und 3. Tag nach der Paarung gegeben wurde. Bei diesen Tieren erstreckte sich die Hemmung der Prolaktinausschüttung bis zum Morgen des 3. Tages nach der Paarung, wie aus den Werten der Tiere der Gruppe 4 (Abb. 33) entnommen werden kann. Von den 18 Tieren, bei denen die CB 154-Behandlung

TABELLE IV. Wirkung von CB 154 auf die Gravidität bei der Ratte.
2 x 70 µg, 1 x 100 µg CB 154 / Tag

Ende der Behandlung	Anzahl der Injektionen	gepaarte Ratten	gravide Ratten
Proöstrus 8.00 Uhr (vor der Paarung)	1	8	8
Östrus 8.00 Uhr (Tag 1 der Gravidität)	4	10	10
Tag 2 der Gravidität 8.00 Uhr	7	12	12
24.00 Uhr	9	16	10
Tag 3 der Gravidität 8.00 Uhr	10	18	0

nicht gravide Tiere waren am nächsten Tag im Proöstrus

bis zum Morgen des 3. Tages (8 Uhr) ausgedehnt wurde, abortierten alle. Alle Tiere, bei denen die Gravidität unterbrochen wurde, kamen am nächsten Tag in den Proöstrus.

IV. Diskussion

1. Jungtiere

Beim Betrachten der Hormonprofile präpuberaler Ratten (Abb. 1-6) fällt auf, daß die Profile für Östradiol, Prolaktin und Progesteron bei Weibchen und Männchen annähernd identisch sind. Unterschiedliche Hormonprofile für Weibchen und Männchen liegen dagegen bei LH, FSH und Testosteron vor. Auffallend sind die extrem hohen Östradiolwerte bei beiden Geschlechtern zwischen dem 9. und dem 19. Tag, sowie die hohen FSH-Werte und die sporadischen LH-Erhöhungen bei den Weibchen etwa zu der gleichen Zeit. Hohlweg und Junkmann (1932), Byrnes und Meyer (1951), sowie Donovan und Van der Werff ten Bosch (1959) nahmen an, daß der hypothalamo-hypophysäre Komplex infantiler Ratten eine erhöhte Sensitivität gegenüber dem negativen Rückkoppelungsmechanismus gonadaler Steroide aufweist. Ramirez und McCann (1963) und McCann und Ramirez (1964) fanden, daß geringere Mengen Östradiols nötig waren, um die erhöhten LH-Werte im Serum ovariektomierter infantiler Ratten zu erniedrigen, als dies bei adulten ovariektomierten Ratten der Fall war. In Bezug auf die Rückkoppelungssensitivität

des Hypothalamus auf gonadale Steroide postulierten sie den Begriff des "Gonadostaten". Nach ihrer Hypothese ist der "Gonadostat" infantiler Tiere hochsensibel, spricht also schon auf sehr geringe Mengen Steroidhormon mit einer Drosselung der Gonadotropinausschüttung an. Zum Zeitpunkt der Pubertät nimmt diese Sensibilität rapide ab. Die im Blut zirkulierenden Steroidmengen sind nun nicht mehr in der Lage, die Gonadotropinausschüttung zu hemmen, und die ersten zyklischen LH- und FSH-Ausschüttungen können erfolgen. Diese Hypothese ist von der Annahme getragen, daß die infantilen Gonaden nicht in der Lage seien, größere Steroidmengen zu produzieren, und sie ist noch immer eine der gängigsten Hypothesen zur Erklärung der Pubertät. Sie wurde auch dann nicht entkräftet, als im Serum weiblicher Ratten um den 10. bis 20. Lebenstag herum hohe FSH-Spiegel gemessen wurden (Goldman et al. 1971, Kragt und Dahlgren 1972, Meijs-Roelofs et al. 1973b, Ojeda und Ramirez 1972, Ramirez 1971). Nach dieser Hypothese dürften die in dieser Arbeit gemessenen hohen Östradiolwerte zwischen dem 9. und dem 19. Lebenstag nur mit niedrigen LH- und FSH-Werten einhergehen. Da dies aber bei den weiblichen Tieren nicht der Fall ist, und die hier gemessenen Östradiol- und FSH-Werte auch mit denen anderer Laboratorien übereinstimmen (Cheng und Johnson 1973/74, Meijs-Roelofs et al. 1973a, Weisz und Gunsalus 1973), ist die Hypothese einer erhöhten hypothalamischen Sensibilität gegenüber negativer Rückkoppelung ovarieller

Steroide in diesem Alter nicht haltbar.

Die hier gefundenen Ergebnisse lassen eher darauf schließen, daß Östradiol im infantilen Tier, wie auch beim erwachsenen (Hotchkiss et al. 1971, Miyake 1969, Neill et al. 1971, Schams und Karg 1972) einen positiven Rückkoppelungseffekt auf die hypothalamo-hypophysäre Achse ausübt. Die Schlußfolgerung liegt nahe, daß die hohen Östradiolwerte im Serum junger Ratten zwischen dem 9. und dem 19. Tag eine hypophysäre LH- und FSH-Ausschüttung auslösen, die mit der präovulatorischen Gonadotropinausschüttung bei erwachsenen Ratten vergleichbar ist (Shaikh 1971, Butcher et al. 1974, Gay et al. 1970, Wuttke und Meites 1970). Auf Grund der hohen gemessenen Anzahl von LH-Höchstwerten ist anzunehmen, daß die Gonadotropinausschüttung während dieser Entwicklungsperiode bei jedem Tier in mehrfachen Schüben geschieht und dadurch unregelmäßig LH-Erhöhungen zustandekommen. Schams und Butz (1972) fanden auch unregelmäßige LH-Erhöhungen nach sequenziellen Messungen im präpuberalen weiblichen Rind, nicht aber im männlichen. Auf Grund der kurzen Halbwertszeit von LH und der bedeutend längeren von FSH (Gay et al. 1970), verwischen sich die Intervalle zwischen Höchstwerten und Basiswerten bei den zusammengefaßten Seren für FSH bedeutend stärker als für LH. Dadurch entsteht der Eindruck konstant hoher FSH-Werte.
Bei den männlichen Tieren wurden zwischen dem 9. und dem 19. Tag zwar auch hohe Östradiolwerte gefunden, doch waren

ihre LH- und FSH-Werte zu dieser Zeit niedrig. Der Verdacht liegt nahe, daß der männliche Hypothalamus im Gegensatz zum weiblichen nicht in der Lage ist, auf eine positive Rückkoppelung von Östradiol mit dem Befehl für zyklische LH- und FSH-Ausschüttung zu antworten. Östradiolbenzoat-Injektionen erzielten bei adulten männlichen Ratten weder positive Rückkoppelungswirkung auf die LH-oder FSH-Ausschüttung (Mallampati und Johnson 1973), noch auf die Prolaktinausschüttung (Neill 1972), im Gegensatz zu adulten Weibchen oder femininisierten Männchen (Neill 1972). Auch bei androgenisierten weiblichen Ratten hatte Östradiol keine positive Wirkung auf die Prolaktinausschüttung (Neill 1972). Während bei weiblichen ovariektomierten Ratten schon die Injektion von 1 µg Östradiolbenzoat die Serum Prolaktinwerte um das 15-fache ansteigen ließ, hatten bei männlichen Ratten selbst Injektionen bis zu 20 µg Östradiolbenzoat nur den schwachen Effekt eines Prolaktinanstieges um etwa die Hälfte des Ausgangswertes (Caligaris et al. 1974). Auch Meites et al. (1972) kamen nach Prüfung der vorliegenden Literatur zu der Auffassung, daß Hypophysen männlicher Ratten und Kaninchen auf Östrogenstimulus hin kaum mit Prolaktinausschüttung zu reagieren scheinen, ganz im Gegenteil zu den Hypophysen weiblicher Tiere.

Die vom Tag der Geburt bis etwa zum 19. Lebenstag gemessenen erhöhten Testosteronwerte im Serum der Männchen

(Abb. 6) sind sicherlich für die Maskulinisierung des Hypothalamus und damit für die Ausschaltung des "zyklischen Zentrums" verantwortlich. Die Testosteronwerte der infantilen Weibchen sind im Gegensatz dazu niedrig, ihr "zyklisches Zentrum" wird daher nicht beeinflußt. Injiziert man weiblichen Ratten jedoch Testosteron in den ersten 5 Tagen nach der Geburt, so führt dies zur Ausschaltung des zyklischen Zentrums im Hypothalamus (Barraclough 1961, Gorski und Barraclough 1963, Swanson und Van der Werff ten Bosch 1964a und 1964b). Cheng und Johnson (1973/74) stellten fest, daß die Östradiolwerte im Serum solcher androgenisierter weiblicher Ratten zwischen dem 10. und dem 25. Tag noch höher sind, als die schon relativ hohen Werte normaler Weibchen dieses Alters. Aus Abb. 22 und 23 geht jedoch klar hervor, daß diese Östradiolerhöhung nicht mit einer LH- oder FSH-Erhöhung im Serum einhergeht. Der androgenisierte Hypothalamus - gleich ob beim normalen Männchen oder beim androgenisierten Weibchen - hat die Fähigkeit verloren, auf die positive Rückkoppelung von Östradiol zu reagieren. Das von Barraclough und Gorski (1961) postulierte "zyklische Zentrum" in der präoptischen Region des Hypothalamus ist möglicherweise nichts anderes, als ein Östrogen-sensitives Zentrum,welches beim Weibchen durch die massive Östradioleinwirkung zwischen dem 9. und 19. Tag gebildet wird. Dies ist wahrscheinlich auch der Grund, warum ovariektomierte Ratten vor dem 15. Lebenstag nicht auf Östradiolstimulus reagierten, wohl aber

nach dem 20. Tag (Ojeda und Ramirez 1973/74).

Es ist anzunehmen, daß dieses "Östrogen-sensitive Zentrum" beim männlichen Tier in den Tagen nach der Geburt von Androgenen geprägt und damit für Östradiolstimulus ausgeschaltet wird. Dies ist auch der Grund, warum nach dem 10. Tag keine Maskulinisierung mehr durchgeführt werden kann. Das "Östrogen-sensitive Zentrum" ist inzwischen auf Östradiol (bzw. Östrogene) geprägt worden.

Nach Kastration (Pfeiffer 1936) oder nach Inaktivierung der Androgene durch Behandlung mit anti-androgenen Drogen (Neumann und Elger 1965 und 1966) kann die Androgenisierung des "Östrogen-sensitiven Zentrums" beim Männchen nicht erfolgen. Die auch bei der männlichen Ratte auftretende hohe Östradiolsekretion zwischen dem 9. und dem 19. Tag sensibilisiert das "Östrogen-sensitive Zentrum" und macht es damit reaktionsfähig auf Östrogenstimulus. Die auf diese Weise femininisierten männlichen Ratten sind nun in der Lage, auf Östradiolstimulus mit Prolaktinausschüttung zu reagieren (Neill 1972) und im adulten Alter nach Ovarimplantation regelmäßig Östruszyklen zu durchlaufen (Pfeiffer 1936). Da das "Östrogen-sensitive Zentrum" auch nach Ovariektomie noch endogen geprägt werden kann, ist anzunehmen, daß zumindest ein Teil des zirkulierenden Östradiols zwischen dem 9. und dem 19. Tag nicht aus den Gonaden stammt.

Bei den mit Cyproteronacetat behandelten männlichen Ratten konnten am 15. Tag erhöhte Serum FSH-Werte (Abb. 22), nicht aber erhöhte LH-Werte festgestellt werden (Abb. 23). Andere Befunde aus unserem Labor (Mecke, unveröffentlichte Daten) machten jedoch deutlich, daß männliche Ratten nach Femininisierung durch den freien Alkohol Cyproteron am 15. Lebenstag sporadische LH-Erhöhungen im Serum aufweisen. Es ist bekannt, daß Cyproteronacetat eine gestagene Wirkung ausübt. Gestagene aber hemmen die hypophysäre Gonadotropin-ausschüttung. Dies ist wahrscheinlich der Grund, weshalb in dieser Untersuchung keine erhöhten LH-Werte im Serum von männlichen Ratten festgestellt werden konnten. Die erhöhten FSH-Werte im Serum (Abb. 23), sowie die spradisch aufgetretenen LH-Erhöhungen am 15. Lebenstag (Mecke) machen deutlich, daß männliche Ratten nach Inaktivierung der postnatal im Blut zurkulierenden Androgene die Fähigkeit behalten, auf Östrogenstimulus mit massiver Gonadotropin-ausschüttung zu reagieren.

Die Hormonwerte der weiblichen Jungtiere stehen im Einklang mit der morphologischen Entwicklung der Ovarien. Etwa zwischen dem 10 und dem 20. Tag vergrößert sich das Zwischenzellgewege (Dawson und McCabe 1951),und die Follikel wachsen rapide (Crtichlow und Bar-Sela 1967), zu einer Zeit also, in der LH, FSH und Östradiol erhöht sind. Schon 1951 (Rennels) und 1953 (Falck) wies man histochemisch eine vermehrte Östradiolproduktion in den

Ovarien von Ratten dieser Altersstufe nach. Es ist jedoch fraglich, ob die in dieser Zeit erhöhten Östradiolwerte allein aus den Ovarien stammen. Erst kürzlich wurden in dieser Hinsicht zwei völlig entgegengesetzte Meinungen publiziert. Meijs-Roelofs et al. (1973) postulierten Ovarien als alleinige Organe präpuberaler Östradiolsekretion, Weisz und Gunsalus (1973) berichteten hingegen, das meiste Östradiol in dieser Zeit stamme aus den Nebennieren.

Prolaktin und Progesteron wiesen bei Weibchen und Männchen ein auffallend ähnliches Hormonprofil auf. Bis etwa zum 20. Tag lagen von beiden Hormonen nur Basiswerte im Serum vor. Die danach kontinuierlich ansteigenden Werte beider Hormone ließen den Verdacht aufkommen, Prolaktin stimuliere die Progesteronsekretion. Nach Injektion von ovinem Prolaktin während einer Zeit niedriger endogener Prolaktinsekretion konnte jedoch kein Progesteronanstieg im Serum gemessen werden. Im Gegenteil, die Progesteron- wie auch die Östradiolwerte im Serum lagen nach der Prolaktinbehandlung bedeutend niedriger als die Kontrollwerte. Aber auch die endogene Prolaktinausschüttung war gehemmt, was darauf schließen läßt, daß schon beim präpuberalen Tier ein "short loop feedback", also ein direkter Rückkoppelungsmechanismus für Prolaktin existiert, wie er seither nur bei adulten Tieren beobachtet wurde (Clemens et al. 1968, Voogt und Meites 1971, Welsch et al. 1968).

Während der Phase ansteigenden Serum Prolaktins und Progesterons sind die ovariellen Follikel in der Lage, Gonadotropin-Stimulation mit beschleunigter Endreifung, Ovulation und Bildung von Corpora lutea zu beantworten.

Um den 18. bis 20. Lebenstag herum besitzen die Ovarien schon Follikel mit großen Antren und die Theka ist in eine innere und eine äußere Schicht differenziert (Critchlow und Bar-Sela 1967). Auch in Mäuseovarien befinden sich gegen Ende der 3. Woche die meisten Follikel (Pedersen 1969). Die frühesten Fälle induzierter Ovulationen wurden bei Ratten nach PMS-(Pregnant Mare Serum Gonadotropin) oder HCG-(Human Chorion Gonadotropin) Behandlung am 19. Tag berichtet (Freed und Coppock 1936, Hohlweg 1936, McCormack und Meyer 1964), diese follikuläre Reaktion war jedoch vor dem 22. Tag nicht übereinstimmend. Die Zahl der gesprungenen Eier bei diesen jungen Tieren war noch gering (Leonard und Smith 1934, Gaarenstroom et al. 1960, McCormack und Meyer 1964). Bei Konstanthaltung des PMS-HCG-Stimulus stieg die Zahl der gesprungenen Eier mit dem Alter der Tiere an, oder bei vorgegebenem Alter stieg ihre Zahl mit der PMS-Dosis an (Zarrow und Quinn 1963). Gonadotropin-Stimulation vor dem 19. Tag führte zu keiner Ovulation, obwohl der morphologische Unterschied zwischen einem Follikel dieser Zeit und einem reaktionsfähigen Follikel nicht gravierend ist (Hisaw 1947). Es ist möglich, daß die PMS-Ovulationsdosis-Abhängigkeit vom Alter der

Tiere in Wirklichkeit eine Abhängigkeit vom Serum Progesteron- und/oder Prolaktinspiegel ist.

Es ist bekannt, daß Prolaktin eine Rolle bei der Steroidhormon-Biosynthese spielt. In Zusammenarbeit mit HCG stimuliert es in vitro die Incorporation von ^{14}C-Acetat in Cholesterin im adulten Ratten Corpus luteum (Gospodarowicz und Legault-Démare 1963). Hilliard et al. (1968) zeigten, daß Prolaktin die Cholesterinspeicherung in Kaninchenovarien förderte, deren Cholesterindepot zuvor durch LH erschöpft worden war. Hypophysektomie nach LH-Behandlung führte zu Atrophie der Corpora lutea und des Zwischenzellgewebes. Erst Prolaktinbehandlung führte bei diesen Tieren zur Regeneration des Zwischnzellgewebes und zur Wiederherstellung des Cholesterinspeichers, nicht aber zur Progesteronausschüttung. In Abschnitt III,2b wurde gezeigt, daß gepaarte Ratten nach Hemmung der Prolaktinsekretion weniger Progesteron ausschütteten als gepaarte Kontrollratten und bis zum 3. Tag abortierten. Dies ist vermutlich mit darauf zurückzuführen, daß aufgrund des Prolaktinmangels nicht genügend Vorstufen in den Ovarien gespeichert waren, um die zur Aufrechterhaltung der Gravidität benötigten Progesteronmengen zu mobilisieren. Daraus ist zu schließen, daß eine der luteotropen Wirkungen des Prolaktins darin besteht, Vorstufen für die Steroid-Biosynthese zur Verfügung zu stellen.

Es ist nicht abwegig, anzunehmen, daß diese Wirkung des

Prolaktins auch für präpuberale Tiere zutrifft. Die langsam ansteigenden Serum Prolaktinwerte bauen vermutlich die Steroiddepots der Ovarien auf, die zur ersten Ovulation benötigt werden.

Prolaktin-Injektionen vom 8. bis zum 25. Tag hatten eine verfrühte Pubertät zur Folge. Auch bei Voogt et al. (1969a und 1969b), sowie Clemens et al. (1969) führten Prolaktininjektionen bei präpuberalen Ratten zu verfrühter Pubertät. Da aber die Hemmung der Prolaktinausschüttung durch CB 154 keinesfalls zu einer verspäteten Pubertät führte, kann nicht angenommen werden, daß allein die in den Ovarien zur Verfügung stehenden Steroidreserven den Zeitpunkt der Pubertät bestimmen.

Es fällt auf, daß die LH-, FSH- und Östradiolwerte im Serum von etwa dem 20. Tag bis kurz vor der Pubertät niedrig bleiben, während einer Zeit also, in der Prolaktin- und Progesteronwerte erhöht sind. Nicht nur exogene Gonadotropinbehandlung führt in dieser Zeit, wie bereits erwähnt, zu Ovulationen, sondern auch Injektionen von Östrogenen (Ramirez und Sawyer 1965, Ying und Greep 1971). Die Anwesenheit von Männchen oder männlichem Uringeruch führte bei weiblichen Mäusen zu vorzeitiger Pubertät. Diese wurde durch endogene Östradiolausschüttung in Gang gebracht, der erhöhte FSH- und LH-Werte im Serum folgten (Bronson und Desjardins 1974).

Die Vermutung liegt nahe, daß Prolaktin die zu dieser Zeit für Östradiolstimulus hochempfindliche Ratte vor verfrühter Pubertät schützt. Prolaktininjektionen vom 8. Lebenstag an führten zur Senkung der Östradiolspiegel im Serum und zur Hemmung der LH-Ausschüttung. Wuttke und Döhler (1974) postulierten den Begriff einer "positiven Rückkoppelungsschwelle" für Östradiol, die während der ersten 2 bis 3 Lebenswochen so hoch liegt, daß sie nur von äußerst hohen Östradiolwerten überschritten werden und somit eine LH-Ausschüttung auslösen kann. Durch die Prolaktinbehandlung wurde der Östradiolspiegel zu jener Zeit im Serum gesenkt. Vermutlich waren die erniedrigten Östradiolwerte nun nicht mehr hoch genug, um die "positive Rückkoppelungsschwelle" zu überschreiten, folglich blieben die sporadischen LH-Ausschüttungen aus, die bei unbehandelten weiblichen Ratten beobachtet wurden (Abb. 12). Der kontinuierliche endogene Prolaktinanstieg von etwa dem 20. Tag an wirkt vermutlich auf die gleiche Weise auf Östradiol und verhindert dadurch die Östradiol-induzierte Ausschüttung präovulatorischer LH-Mengen.

Durch Prolaktinimplantationen in der medianen Eminenz adulter Ratten wurde die endogene Prolaktinausschüttung gehemmt, die Gonadotropinausschüttung jedoch stimuliert (Clemens und Meites 1968, Voogt und Meites 1971). Auch bei präpuberalen Ratten hatten Prolaktinimplantationen in der medianen Eminenz vermehrte hypophysäre LH- und

FSH-Ausschüttung zur Folge und führten zu verfrühter Pubertät (Clemens et al. 1969, Voogt et al. 1969). Es ist möglich, daß die vermehrte Gonadotropinausschüttung durch Östradiol ausgelöst wurde, welches nach Wegfall des hemmenden Einflusses endogenen Serumprolaktins in verstärktem Maße aktiv werden konnte. Hemmung der endogenen Prolaktinausschüttung durch CB 154 (Abb. 17) führte jedoch weder zu Erhöhung des Östradiolspiegels im Serum (Abb. 21), noch zu verstärkter Gonadotropinausschüttung (Abb. 18 und 19) und hatte keine signifikant verfrühte Pubertät zur Folge.

Diese augenscheinlich entgegengesetzten Befunde lassen sich wohl dadurch erklären, daß endogenes oder exogen in die Zirkulation bzw. in die mediane Eminenz appliziertes Prolaktin die Erhöhung eines Schwellenwertes für die negative Rückkoppelungsaktivität von Prolaktin zur Folge hat (Wuttke und Döhler 1974). Ein späterer Abfall der Prolaktinkonzentration unter diesen Schwellenwert kann nach dieser Hypothese dazu führen, daß ein gleichzeitiger, geringfügiger Östradiolanstieg über die zu dieser Zeit sehr niedrige positive "Östradiol-Rückkoppelungsschwelle" (Wuttke und Döhler 1974) hinaus ausreicht, vermehrte Gonadotropinausschüttung auszulösen, was eine Ovulation und damit die Auslösung der Pubertät nach sich zieht.

Wie bereits erwähnt, steigt auch der Progesteronspiegel

gegen Ende der 3. Lebenswoche im Serum an. Schon Alden (1947) und Dawson und McCabe (1951) fanden Hinweise darauf, daß Rattenovarien zu dieser Zeit mit der Ausschüttung von Progesteron beginnen. Vor der 3. Lebenswoche fand Rennels (1951) mit Hilfe der Hooker-Forbes Hormonbestimmung keine Hinweise auf Progesteron im Serum. Wie aus Abbildung 4 zu ersehen ist, wurden mit der bedeutend sensitiveren radioimmunologischen Hormonbestimmung durchaus Progesteronwerte gemessen, doch waren diese niedriger als im späteren Alter.

Es ist bekannt, daß Progesteron beim erwachsenen Tier die präovulatorische LH-Ausschüttung unter ganz bestimmten Bedingungen zeitlicher Abgestimmtheit, Dosis, ovariellen Zustandes und Östrogenvorbehandlung erleichtert (Everett 1961 und 1969, Sawyer 1969). Die durch Pentobarbitalanästhesie verursachte Hemmung der LH-Ausschüttung am Proöstrusnachmittag und die damit verbundene Hemmung der späteren Ovulation, konnten durch Progesteroninjektionen am Proöstrusmorgen aufgehoben werden (Zeilmaker 1966, Redmond 1968, Brown-Grant und Naftolin 1972). McCormack und Meyer (1963 und 1964) berichteten, daß Progesteron die Ovulationsbereitschaft des Ovars nach PMS Behandlung bei präpuberalen Ratten verstärkte. Diese Wirkung des Progesterons wurde durch verschiedene neurale Blocker (Zarrow und Quinn 1963, Quinn und Zarrow 1964a) und durch Läsionen in der medialen präoptischen Region des Hypo-

thalamus (Quinn und Zarrow 1964b) aufgehoben.

Die konstant ansteigenden Progesteronwerte im Serum präpuberaler Ratten etwa vom 15. Tag bis zur Pubertät (Abb. 4), sowie die zuvor erwähnten Befunde, deuten darauf hin, daß Progesteron möglicherweise eine fördernde Rolle bei der Reifung der neuralen und/oder ovariellen Mechanismen spielt, die die hypophysäre Gonadotropinausschüttung kontrollieren und/oder auf die Gonadotropinstimulation ansprechen.

Welche Wirkung die exogene Prolaktinapplikation bei den männlichen Ratten auf die Pubertät hatte, konnte mit Hilfe der angewandten Untersuchungsmethoden nicht festgestellt werden. Die endogene Hormonausschüttung wies während der Behandlung ähnliche Tendenzen auf wie die Hormonausschüttung der weiblichen Tiere. Ob jedoch die Spermatogenese oder der Transport der Spermatozoen auch beeinflußt wurden, konnte aufgrund fehlender Hodenhistologie nicht festgestellt werden.

Die endogene Wirkung von Prolaktin beim präpuberalen männlichen Säugetier ist relativ unerforscht. Bei adulten männlichen Ratten wurde Prolaktin nicht nur in der Hypophyse (Catt und Moffat 1965, Jones et al. 1965), sondern auch im peripheren Blut gefunden (Niswender et al. 1969, Amenomori et al. 1970). Hafiez et al. (1972) stellten fest,

daß Prolaktin im Gegensatz zu LH nicht die Testosteronbildung in Testiskulturen von adulten Rattenmännchen stimulierte, wohl aber die Wirkung des LH verstärkte. Außerdem förderte Prolaktin den in vitro Einbau von ^{14}C-Acetat in Cholesterinester, der als Vorstufe für die Steroidbildung dient. Sie schlossen daraus, wie schon Bartke (1971) zuvor bei der Maus, daß die Aufgabe des Prolaktins beim adulten Männchen darin besteht, die Vorstufen für die LH abhängige Androgenbildung zur Verfügung zu stellen. Es ist naheliegend, daß die ansteigenden Prolaktinwerte bei der präpuberalen männlichen Ratte der gleichen Funktion dienen.

Progesteron und FSH hatten beim präpuberalen Männchen ähnliche Profile wie Prolaktin. Sie waren bis etwa zum 20. Tag niedrig und stiegen danach kontinuierlich im Serum an. LH hingegen blieb von Geburt bis zur Pubertät niedrig und war nur geringfügigen Schwankungen unterworfen. Auch Negro-Vilar et al. (1973) fanden bei ihren Untersuchungen an Rattenmännchen ansteigende Prolaktin- und FSH-Werte im Serum etwa vom 20 Tag an. Die LH-Werte dieser Tiere zeigten nur unbedeutende Schwankungen. Niedrige LH- und FSH-Werte wurden während der ersten 12 Tage auch von Goldman et al. (1971) bei männlichen Ratten gemessen. Ojeda und Ramirez (1972) fanden graduierlich ansteigende FSH-Werte zwischen dem 10. und dem 45. Tag, ihre LH-Werte waren aber im Gegensatz zu den hier gefundenen Werten um

den 10. Tag herum erhöht.

Odell et al.(1973a und 1973b) fanden, daß FSH deprivierte präpuberale Rattentestes im Gegensatz zu Testes von Ratten, die erst als adulte Tiere hypophysektomiert wurden - die also der FSH-Wirkung schon ausgesetzt waren - nicht auf LH Stimulation reagierten. Nach FSH Stimulus wurde diese Reaktionsfähigkeit jedoch hergestellt. Ihrer Meinung nach (Odell et al. 1973a und 1973b) ist die sexuelle Reifung der männlichen Ratte eine zeitabhängige, FSH-induzierte, fortschreitende Sensibilisierung der Testes auf LH. In anderen Worten, die etwa vom 20. Tag an kontinuierlich ansteigenden FSH-Werte dienen der Sensibilisierung der Testes auf LH. Auf diese Weise können auch konstant bleibende LH-Werte nach genügender FSH Sensibilisierung eine Testisaktivierung hervorrufen.

Die Konsequenz dieser Hypothese liegt darin, daß die vorliegenden LH-Basiswerte (Abb. 1) nach angemessener Sensibilisierung der Testes durch FSH, wie sie durch den kontinuierlichen Anstieg dieses Hormons im Serum nach etwa dem 20. Tag (Abb. 2) gegeben sein dürfte, eine verstärkte Testosteronausschüttung veranlassen müßten. Dies ist auch tatsächlich der Fall. Vom 41. Lebenstag an - also etwa der Zeit in der der Transport der Spermatozoen zu den Vasa deferentia beginnt - steigt Testosteron im Serum männlicher Ratten rapide an. Auch Feder et al. (1968) fanden

bei männlichen Ratten vom 40. Lebenstag an erhöhte Testosteronwerte im Plasma und in den Testes. Ähnliche Ergebnisse wurden von Miyachi et al. (1973) berichtet.

Östradiol wurde bei präpuberalen männlichen Ratten seither noch nicht gemessen. Über die Herkunft dieses Hormons bei präpuberalen männlichen Tieren kann auch nicht viel gesagt werden. Bei erwachsenen männlichen Ratten wurde Östradiol sowohl in den Testes (de Jong et al. 1974) als auch in den Nebennieren (Baird et al. 1969) festgestellt.

Die Wechselwirkung zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden existiert bei der männlichen Ratte im Gegensatz zur weiblichen Ratte schon sehr bald nach der Geburt (oder sogar schon vor der Geburt?). Goldman et al. (1971) fanden schon kurz nach der Geburt erhöhte LH- und FSH-Werte im Serum gonadektomierter (kastrierter) männlicher Ratten. Goldman und Gorski (1971) hemmten die erhöhte LH- und FSH-Ausschüttung gonadektomierter männlicher Ratten im Alter von 6 bis 9 Tagen, indem sie Testosteronpropionat injizierten. Ojeda und Ramirez (1972) fanden einen Anstieg der FSH-Werte im Serum von 10 Tage alten männlichen Ratten nach Hemigonadektomie, mit nachfolgender kompensatorischer Hypertrophie der intakten Testis. Die gleichen Autoren (1973/74) fanden nach Kastration erhöhte LH- und FSH-Werte im Serum männlicher Ratten, die mit Hilfe von Testosteronpropionat-Injektionen wieder gesenkt werden konnten.

El Safoury und Bartke (1974), sowie Parlow et al. (1973) konnten die Testosteronsekretion präpuberaler männlicher Ratten durch LH-Infusionen erhöhen, nicht aber durch FSH (El Safoury und Bartke 1974). Ein verstärkender Effekt auf die Testosteronausschüttung zeigte sich, wenn LH und FSH gemeinsam appliziert wurden (El Safoury und Bartke 1974). Auch Arai und Serisawa (1973), sowie Serisawa und Arai (1974) wiesen bei postnatalen männlichen Ratten vermehrte Androgenausschüttung nach, wenn mit LH oder HCG stimuliert wurde, nicht aber bei FSH-Stimulus. Injektionen von Gonadotropin-Releasing-Hormon führte bei 8 bis 26 Tage alten männlichen Ratten zur LH-Ausschüttung (Miyachi et al. 1973). Diese Ergebnisse werden ergänzt durch die Beobachtung in dieser Arbeit, daß die FSH-Ausschüttung bei der männlichen Ratte ansteigt, wenn die Testosteronwerte abfallen. Die Vermutung liegt nahe, daß dieser FSH-Anstieg durch den Wegfall der negativen Rückkoppelung des Testosterons zustande kommt.

Die hier aufgezeigten Befunde deuten darauf hin, daß bei der männlichen Ratte die Hypothalamo-hypophysäre-gonadale Achse schon sehr bald nach der Geburt (oder schon vor der Geburt?) ausgebildet ist.

2. Geschlechtsreife Tiere

a. Partielle Hemmung der Prolaktinausschüttung

Linkie und Niswender (1972) bestimmten Prolaktin und

Gonadotropine im Serum gravider Ratten und fanden bei täglicher Blutentnahme nur in den ersten 3 Tagen und gegen Ende der Gravidität erhöhte Prolaktinwerte. Auch in dieser Studie wurden in den ersten Tagen der Gravidität erhöhte Prolaktinwerte gemessen (Abb. 24 und 33). Freeman und Neill (1972) berichteten über einen nächtlichen Prolaktinanstieg bei der pseudograviden Ratte. Butcher et al. (1972) fanden einen semicircadianen Rhythmus bei der Prolaktinausschüttung gravider Ratten mit Höchstwerten am Nachmittag und am frühen Morgen. Die in dieser Studie gemachten Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse von Butcher et al. (1972) und zeigen darüberhinaus, daß der semicircadiane Rhythmus bei der Prolaktinausschüttung während der zweiten Graviditätswoche langsam erlischt (Abb. 29).

Die Prolaktin hemmende Wirkung von Mutterkornalkaloiden (Wuttke et al. 1971, Lu et al. 1971, Malven und Hodge 1971) konnte auch in dieser Studie festgestellt werden. Messungen am Tage ergaben Prolaktinwerte, die mit denen hypophysektomierter Tiere vergleichbar waren (Linkie und Niswender 1972). Aus Abb. 25, 28 und 31 ist zu erkennen, daß die LH- und FSH-Ausschüttung nicht durch die CB 154-Behandlung beeinträchtigt wurde. Sowohl bei den Kontrolltieren, als auch bei den CB 154-behandelten Tieren wurden erhöhte LH-Werte zu Beginn der Gravidität (Abb. 25) und am 1. Tag der Laktation (Abb. 28) gemessen.

Die Geburten verliefen normal. Bei der Blutabnahme am Nachmittag hatten die CB 154-behandelten laktierenden Ratten nur niedrige Prolaktinwerte, doch wurden bei den meisten Jungen vormittags Milchflecken entdeckt, ein Zeichen, daß die Mutter laktiert haben muß. Diese Jungen blieben zwar bedeutend leichter, als die Jungen unbehandelter Kontrollratten und einige starben auch, doch war der Schluß naheliegend, daß die Laktation, wie auch die Gravidität allein von Basiswerten von Prolaktin induziert und aufrechterhalten werden können. Diese Vermutung war schon von Wuttke et al. (1972) für die Pseudogravidität aufgestellt worden. Dennoch blieb ein gewisser Zweifel, ob auch wirklich jegliche Prolaktinerhöhung über Basiswerte hinaus durch die 2 CB 154-Injektionen pro Tag gehemmt worden war. Um dies zu klären, wurden am 7. Tag der Gravidität über eine Zeitspanne von 24 Stunden hinweg alle 4 Stunden Blutproben von CB 154-behandelten Ratten gesammelt. Abb. 30 macht deutlich, daß die Prolaktinausschüttung während des Tages bis 23 Uhr gehemmt war. Danach jedoch stiegen die Prolaktinwerte so hoch, wie sie nie bei Kontrolltieren gemessen wurden. Die Wirkung des CB 154 hatte zwar gereicht, um den Prolaktinanstieg am Nachmittag zu blockieren, nicht aber den in der Nacht. Im Gegenteil, das am Tage nicht ausgeschüttete Prolaktin wurde nun zusätzlich ausgeschüttet. Nur so lassen sich die hohen Werte um 3 Uhr und um 7 Uhr erklären. Auch Yanai und Nagasawa (1974) stellten kürzlich fest, daß CB 154 zwar

die Prolaktinausschüttung hemmt, innerhalb von 8 Stunden aber keinen Einfluß auf die Prolaktinsynthese zeigt. Der Prolaktinstimulus zwischen 3 und 7 Uhr genügte möglicherweise, um die Gravidität und die Laktation aufrechtzuerhalten.

Es war von Interesse festzustellen, welche Wirkung die verzögerte Prolaktinausschüttung auf die Progesteronsekretion hatte. Während die unbehandelten graviden Kontrolltiere Höchstwerte um 11 und um 23 Uhr erreichten, wiesen die CB 154-behandelten graviden Ratten während des Tages niedrigere Progesteronwerte im Serum auf als während der Nacht (Abb. 32). Zu jeder Zeit waren ihre Werte niedriger als die Werte der Kontrolltiere, eine Abhängigkeit von der verschobenen Prolaktinsekretion war jedoch nicht festzustellen.

Diese Studie bestätigt die Wichtigkeit cirkadianer Rhythmen, die in vielen Forschungsberichten immer wieder vernachlässigt wird. Außerdem macht sie deutlich, daß Forschungsergebnisse nur dann miteinander vergleichbar sind, wenn die Tageszeit bei den Messungen berücksichtigt wird.

b. Totale Hemmung der Prolaktinausschüttung

Durch eine zusätzliche Injektion von CB 154 in etwas höherer Dosierung wurde erreicht, daß die Prolaktinaus-

schüttung während der gesamten Tageszeit gehemmt wurde. Die CB 154-behandelten gepaarten Ratten zeigten jeweils eine Stunde vor der nächsten Injektion nur Basiswerte von Prolaktin, ein Zeichen, daß die Behandlung erfolgreich war. Im Gegensatz dazu zeigten die gepaarten Kontrolltiere während der ersten 4 Tage der Gravidität um 7 und um 16 Uhr erhöhte Prolaktinwerte (Abb. 33). Die LH-Werte (Abb. 34) waren durch die Behandlung nicht beeinflußt. Der Serum-Progesteronspiegel war bei beiden gepaarten Gruppen während der ersten beiden Tage niedrig, stieg aber bei den Kontrolltieren im Gegensatz zu den CB 154-behandelten Tieren vom Abend des 2. Tages an steil an. Die Progesteronwerte der CB 154 behandelten gepaarten Tiere blieben auch am 3. Tag niedrig, doch stiegen sie am Nachmittag des 4. Tages an. Anhand von vaginalen Abstrichen und LH-Messungen (hohe LH-Werte) konnte festgestellt werden, daß die Tiere an diesem Tag im Proöstrus waren. Auffallend war am Proöstrusnachmittag die bedeutend geringere und zeitlich verzögerte Progesteronausschüttung bei den CB 154-behandelten Tieren im Vergleich mit proöstrischen Kontrolltieren. Sie war jedoch signifikant höher als die Progesteronausschüttung im Diöstrus und reichte zur Induktion rezeptiven Verhaltens aus, wie am nächsten Morgen anhand der Spermatozoen in den vaginalen Abstrichen festgestellt werden konnte. Der Progesteronanstieg am Proöstrusnachmittag zusammen mit dem vorausgegangenen Östrogenanstieg am Proöstrusmorgen ist für das Paarungsverhalten der weiblichen Tiere verantwortlich

(Schwartz 1970). Die präovulatorische LH-Sekretion war also auch ohne Prolaktin in der Lage, eine signifikante Progesteronausschüttung zu bewirken, die jedoch geringer war, als beim Zusammenwirken von LH mit Prolaktin. Hiermit wird deutlich, daß Prolaktin bei der Bereitstellung von Steroidvorstufen nicht unentbehrlich ist. Seine Aufgabe besteht möglicherweise darin, durch Aktivierung bestimmter Enzymsysteme eine beschleunigte Bereitstellung von Steroidvorstufen zu veranlassen. Bei Prolaktinmangel werden vermutlich andere, länger dauernde Enzymprozesse zur Bereitstellung von Steroidvorstufen in Anspruch genommen.

In Abb. 35 wird deutlich, daß die Progesteronwerte der Tiere im Zyklus,der gepaarten CB 154-behandelten und der gepaarten Kontrolltiere noch 2 Tage nach dem präovulatorischen LH Peak relativ niedrig waren. Erst am Abend des 2. Tages nach der Ovulation stiegen die Werte der gepaarten Kontrolltiere an. Die CB 154-behandelten gepaarten Tiere hatten zu dieser Zeit signifikant niedrigere Werte, aber doch signifikant höhere, als die Tiere im Zyklus (Metöstrus). Wurde zu dieser Zeit die Wirkung des CB 154 aufgehoben (letzte Injektion um 8 Uhr), blieben alle Tiere gravide (Tabelle IV). Bei Abbruch der CB 154-Behandlung um 24 Uhr des 2. Tages blieben noch 10 von 16 Tieren gravide. Aus Absatz III, 2a dieser Studie kann geschlossen werden, daß die prolaktinhemmende Wirkung der benutzten CB 154 Dosis etwa 10 Stunden anhielt. Folglich war die Prolaktinaus-

schüttung dieser Tiere am 3. Morgen nur unvollständig gehemmt. Jede weitere Prolaktinblockade über diesen Zeitpunkt hinaus führte zum Abbruch der Gravidität und zur Rückkehr in den Östruszyklus. Daraus kann geschlossen werden, daß die Gravidität bei der Ratte bis zum Morgen des 3. Tages nach der Ovulation ohne Prolaktin- und ohne wesentlichen Progesteronanstieg im Serum bestehen kann. Dieser 3. Tag jedoch ist kritisch bei der Gravidität. Kommt nun eine Prolaktin- und/oder eine Progesteronsekretion zustande, dann bleibt die Gravidität erhalten. Bleiben jedoch Prolaktin und/oder Progesteron weiter blockiert, dann kehrt die Ratte in den Östruszyklus zurück.

Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse von McLean und Nikitovitch-Winer (1973), die Prolaktin zwar eine Rolle bei der Induktion des Corpus luteum einräumen, diese Rolle bei der pseudograviden Ratte aber ausschließlich auf die Zeit um und bis zu 8 Stunden nach Induktion der Pseudogravidität begrenzen. Die hier gefundenen Resultate bei der graviden Ratte machen jedoch deutlich, daß das Corpus luteum graviditatis während der ersten beiden Tage ohne Prolaktin auskommt, danach jedoch unbedingt den Prolaktinstimulus zur Aufrechterhaltung benötigt.

Die Wirkung von Prolaktin auf die Progesteronsynthese im perfundierten bovinen Corpus luteum (Bartosik und Romanoff 1969), auf die Auffüllung der Cholesterindepots im

intakten Kaninchenovar (Hilliard et al. 1968), auf den Lipid-Stoffwechsel und die Bildung von Cholesterinestern im Rattenovar (Armstrong 1968), sowie auf die Erhaltung der Cholesteryl-Ester Synthetase Aktivität (Behrman et al. 1970) konnte gezeigt werden. Während LH für die Entleerung der ovariellen Cholesterindepots und für die Synthese und die Ausschüttung von Progesteron und 20-α-Hydroxy-pregn-4-en-3on (20-α-Dihydroprogesteron, 20-α-OH-P) verantwortlich ist (Armstrong et al. 1964, Behrman und Armstrong 1969, Hilliard et al. 1964), scheint Prolaktin die Progesteronsynthese nicht stimulieren zu können (Huang und Pearlman 1962, Marsh et al. 1966). Seine Wirkung liegt vielmehr in der "permissiven" Rolle, die es bei der Progesteronbiosynthese spielt. Die LH-Wirkung wird bei Gegenwart von Prolaktin verstärkt (Armstrong et al. 1969) und möglicherweise beschleunigt. Diese Verstärkung tritt u.a. dadurch ein, daß Prolaktin den Abbau von Progesteron zu den weniger aktiven 20-α-hydroxylierten (Lindner und Shelesnyak 1967, Armstrong et al. 1969, Armstrong et al. 1970, Wiest et al. 1968, Zmigrod et al. 1972) und 5-α-reduzierten (Zmigrod et al. 1972) Metaboliten verhindert, indem es die Wirkung der 20-α-Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase hemmt (Lindner und Lamprecht 1970). Dadurch wird vermutlich die funktionelle Luteolyse verhindert, denn eine verstärkte 20-α-OH-P Sekretion wurde von Wiest et al. (1968), Moudgal et al. (1972), Pharris und Wyngarden (1969) und Behrman et al.(1971) mit der funktionellen Luteolyse

in Zusammenhang gebracht.

In Anbetracht der niedrigen Prolaktinwerte bei den CB 154 behandelten gepaarten Ratten lassen sich die Ergebnisse folgendermaßen erklären:

1) Fehlendes Prolaktin führte zur Cholesterinverarmung im Corpus luteum. Daher konnten die zur Aufrechterhaltung einer Gravidität benötigten Progesteronmengen aufgrund fehlender bzw. zu langsam bereitgestellter Vorstufen nicht aufgebracht werden.

2) Das Enzym 20-α-Hydroxysteroid Dehydrogenase konnte - von der Hemmung durch Prolaktin befreit - seine volle Aktivität entfalten und das gebildete Progesteron in das weniger aktive 20-α-OH-P metabolisieren.

Eine direkte Wirkung von CB 154 auf die Progesteronbiosynthese erscheint unwahrscheinlich. Shelesnyak (1957 und 1958) zeigte, daß die Wirkung der Mutterkornalkaloide in Ergotoxin durch exogen zugeführtes Prolaktin aufgehoben werden konnte. Diese Befunde wurden auch von anderer Seite und für andere Mutterkornalkaloide bestätigt (Zeilmaker und Carlsen 1962, Shelesnyak und Barnea 1963, Lamprecht et al. 1969). Auch die nach Ergocorninverabreichung aufgetretene stärkere Aktivität der 20-α-Hydroxysteroid Dehydrogenase konnte durch Prolaktinbehandlung aufgehoben werden (Lindner und Lamprecht 1970).

V. Zusammenfassung

Die seither auf dem Gebiet der sexuellen Reifung durchgeführten Hormonuntersuchungen sind recht spärlich und bruchstückhaft. Es ist daher schwierig, sich ein Bild über das hormonelle Zusammenspiel zu machen, welches für die Reifung der Gonaden und der zentralnervösen Strukturen verantwortlich ist, die zur Pubertät führen. Zur Untersuchung dieses hormonellen Zusammenspiels wurden bei weiblichen und männlichen Ratten vom Tag der Geburt bis zur Pubertät Profile aller in unserem Labor radioimmunologisch meßbarer Sexualhormone aufgestellt. Bei den Weibchen wurden erhöhte LH, FSH und Östradiolwerte zwischen dem 9. und 19. Lebenstag im Serum gemessen, wobei die LH-Werte starke interindividuelle Fluktuationen zeigten. Vom 21. Tag bis zur Pubertät waren diese Hormone niedrig, doch Prolaktin und Progesteron stiegen in dieser Zeit kontinuierlich an. Testosteron war bei den Weibchen zu allen Zeiten niedrig, bei den Männchen war es jedoch von der Geburt bis zum 21. Tag und zur Pubertät hin erhöht. Östradiol, Prolaktin und Progesteron zeigten bei den Männchen das gleiche Bild wie bei den Weibchen, mit Ausnahme der zyklischen Schwankungen bei den Weibchen nach Öffnen der Vagina. LH war stets niedrig und zeigte nur geringfügige Fluktuationen. FSH war zunächst auch niedrig, doch stieg es vom 21. Tag an graduierlich an.

Es wird vermutet, daß die hohen Östradiolwerte zwischen

dem 9. und dem 19. Tag ein "Östrogen sensitives Zentrum" prägen, welches später auf Östrogenstimulus mit vermehrter LH-, FSH- und Prolaktinausschüttung reagieren kann. Diese Fähigkeit hat das männliche Tier nicht, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß das auch bei den Männchen vorhandene "Östrogen sensitive Zentrum" von den hohen postnatalen Testosteron- (oder Androgen-)Werten besetzt wird und daher nicht mehr durch das später ansteigende Östradiol geprägt werden kann. Prolaktininjektionen führten bei den Weibchen zum Wegfall der sporadischen LH Peaks und zur vorzeitigen Pubertät. Es wird vermutet, daß Prolaktin auch beim präpuberalen Tier für die Auffüllung der gonadalen Cholesterindepots verantwortlich ist, die für die postpuberale Steroidproduktion benötigt werden.

Der für die Induktion und Aufrechterhaltung des Corpus luteum benötigte luteotrophe Stimulus wird schon seit Jahrzehnten untersucht. Inzwischen kann gesagt werden, daß der luteotrophe Stimulus aus einer zeitlichen Aufeinanderfolge verschiedener hormoneller Einflüsse besteht. In dieser Studie wurde die Wirkung einer durch 2-Br-α-Ergokryptin (CB 154) verursachten Hemmung der hypophysären Prolaktinausschüttung auf das Corpus luteum im Zyklus, während der Gravidität und während der Laktation untersucht. Prolaktinblockade hatte keinen Einfluß auf die LH-Ausschüttung, führte aber zu verminderter Progesteronsekretion am Proöstrustag, sowie vom Abend des 2. Graviditätstages an.

Weiterhin konnte festgestellt werden, daß das Corpus luteum der Gravidität während der ersten zwei Tage ohne Prolaktin auskommen kann, danach jedoch unbedingt den Prolaktinstimulus zum Fortbestehen benötigt. Bei weiterer Prolaktinblockade wurde die Gravidität abgebrochen und die Ratte kam am 4. Tag nach der Paarung wieder in den Proöstrus. Auch die Milchsekretion wurde bei Prolaktinhemmung gedrosselt, was am geringeren Gewicht der säugenden Jungen und ihrer höheren, durch Unterernährung verursachten Sterblichkeitsquote im Vergleich zu den Jungen von laktierenden Kontrolltieren gesehen werden konnte.

Ahmad, N., Lyons, W.R., Papkoff, H. (1969).
Maintenance of gestation in hypophysectomized rats with highly purified pituitary hormones. Anat. Rec. 164 : 291 - 303.

Alden, R.H. (1947).
Implantation of the rat egg. II. Alteration in osmiophilic epithelial lipids of the rat uterus under normal and experimental conditions. Anat. Rec. 97 : 1 - 19.

Allanson, M., Deansley. R. (1934).
Reaction of anoestrus hedgehogs to experimental conditions. Proc. Roy. Soc. B 116 : 170 - 185.

Allen, E. (1922).
The oestrus cycle in the mouse. Am.J. Anat. 30 : 297.

Amenomori, Y., Chen, C.L., Meites, J. (1970).
Serum prolactin levels in rats during different reproductive states. Endocrinology 86 : 506 - 510.

Arai, Y., Gorski, R.A. (1968).
Critical exposure time for androgenization of the rat hypothalamus determined by antiandrogen injection. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127 : 590 - 593.

Arai, Y., Gorski, R.A. (1968).
Protection against the neural organizing effect of exogenous androgen in the neonatal female rat. Endocrinology 82 : 1005 - 1009.

Arai, Y., Serisawa, K. (1973).
Effect of gonadotropins on neonatal testicular activity and sexual differentiation of the brain in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 143 : 656 - 660.

Armstrong, D.T. (1968).
Gonadotropins, ovarian metabolism and steriod biosynthesis. Recent Progr. Horm. Res. 24 : 225 - 319.

Armstrong, D.T., Knudsen, K., Miller, L. (1970).
Effects of prolactin upon cholesterol metabolism and progesterone biosynthesis in corpora lutea of rats hypophysectomized during pseudopregnancy. Endocrinology 86 : 634 - 641.

Armstrong, D.T., Miller, L.S., Knudsen, K.A. (1969).
Regulation of lipid metabolism and progesterone production in rat corpora lutea and ovarian interstitial elements by prolactin and luteinizing hormone. Endocrinology 85 : 393.

Armstrong, D.T., O'Brien, I., Greep, R.O. (1964).
Effects of luteinizing hormone on progestin biosynthesis in the luteinized rat ovary. Endocrinology 75 : 488 - 500.

Aschoff, J. (1958).
Tierische Periodik unter dem Einfluß von Zeitgebern. Z. Tierpsychol. 15 : 1 - 30.

Aschoff, J. (1960).
Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 25 : 11 - 28.

Astwood, E.B. (1941).
The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin. Endocrinology 28 : 309 - 320.

Baird, D.T., Horton, R., Longcope, C., Tait, J.F. (1969).
Steriod dynamics under steady-state conditions. Recent Prog. Horm. Res. 25 : 611 - 656.

Baker, J.R. Ranson, R.M. (1932).
Factors affecting the breeding of the field mouse (Microtus agrestis). Proc. Roy. Soc. B 110 : 313 - 322.

Barraclough, C.A. (1961).
Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. Endocrinology 68 : 62 - 67.

Barraclough, C.A. (1967).
Modifications in reproductive function after exposure to hormones during the prenatal and early postnatal period. Neuroendocrinology 2 : 61 - 99.

Barraclough, C.A., Gorski, R.A. (1962).
Studies on mating behavior in the androgen sterilized female rat in relation to the hypothalamic regulation of sexual behavior. Endocrinology 25: 175 - 182.

Bartke, A. (1971).
Effects of prolactin and luteinizing hormone on the cholesterol stores in the mouse testis. J. Endocrinology 49 : 317 - 324.

Bartosik, D.B., Romanoff, E.B. (1969).
The luteotrophic process: Effects of prolactin and LH on sterol and progesterone metabolism in bovine luteal ovaries perfused in vitro. In: The Gonad, pp. 211, Appleton-Century-Crofts, New York.

Behrman, H.R., Armstrong, D.T. (1969).
Cholesterol esterase stimulation by luteinizing hormone in luteinized rat ovaries. Endocrinology 85 : 474 - 840.

Behrman, H.R., Orczyk, G.P., Macdonald, G.J., Greep, R.O. (1970).
Prolactin induction of enzymes controlling luteal cholesterol ester turnover. Endocrinology 87 : 1251 - 1256.

Behrman, H.R. Yoshinaga, K., Greep, R.O. (1971).
Effects of prostaglandin on ovarian steriod secretion and biosynthesis during pregnancy. Am. J. Physiol. 221 : 189 - 193.

Benoit, J., Walter, F.X., Assenmacher, I. (1950).
Nouvelles recherches relatives à l'action de lumières de différentes longneurs d'onde sur la gonadostimulation du canard mâle impobère. Comt. Rend. Soc. Biol. 144 : 1206 - 1211.

Bissonette, T.H. (1932).
Modification of mammalian sexual cycle: reactions of ferrets (Putoris vulgaris) of both sexes to electric light added after dark in November and December. Proc. Roy. Soc. B 110 : 322 - 336.

Bissonette, T.H. (1933).
Light and sexual cycles in starlings and ferrets. Quart. Rev. Biol. 8 : 201 - 208.

Bissonnette, T.H., Chapnick, M.N. (1930).
Studies on the sexual cycle in birds. Am.J. Anat. 45 : 307 - 344.

Bissonette, T.H. Csecn, A.G. (1937).
Modification of the mammalian sexual cycle: fertile matings of raccoons in December instead of February induced by increasing daily periods of light. Proc. Roy. Soc. B 122 : 246 - 254.

Bronson, F.H., Desjardins, C. (1974).
Circulating concentrations of FSH, LH, Estradiol, and Progesterone associated with acute, male-induced puberty in female mice. Endocrinology 94 : 1658.

Brown-Grant, K., Naftolin, F. (1972).
Facilitation of luteinizing hormone secretion in the female rat by progesterone. J. Endocrinology, 53 : 37.

Butcher, R.L., Collins, W.E., Fugo, N.W. (1974).
Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. Endocrinology 94 : 1704 - 1708.

Butcher, R.L., Fugo, N.W., Collins, W.E. (1972).
Semicircadian rhythm in plasma levels of prolactin during early gestation in the rat. Endocrinology 90 : 1125 - 1127.

Byrnes, W.W. Meyer, R.K. (1951).
Effect of physiological amounts of estrogen on the secretion of follicle stimulating and luteinizing hormones. Endocrinology 49 : 449 - 460.

Caligaris, L., Astrada, J.J., Taleisnik, S. (1974).
Oestrogen and progesterone influence on the release of prolactin in ovariectomized rats. J. Endocrinology 60 : 205 - 215.

Catt, K., Moffat, B. (1965).
Fractionation of rat pituitary extract by starchgel electrophoresis and identification of growth hormone and prolactin. Endocrinology 76 : 678 - 685.

Chang, M.C. (1958).
Capacitation of rabbit spermatozoa in the uterus with special reference to the reproductive phase of the female. Endocrinology 63 : 619 - 628.

Chang, M.C. (1971).
Experimental studies of mammalian spermatozoa and eggs. Second Annual Carl G. Hartman Lecture, Biol. Reprod. 4 : 3 - 15.

Cheng, H.C., Johnson, D.C. (1973/74).
Serum estrogen and gonadotropins in developing and normal female rats. Neuroendocrinology 13 : 357 - 365.

Christensen, A.K., Mason, N.R. (1965).
Comparative ability of seminiferous tubules of interstitial tissue of rat testes to synthesize androgens from progesterone-4-^{14}C in vitro. Endocrinology 76 : 646.

Clegg, E.J. (1960).
The age at which male rats become fertile J. Reprod. Fertil. 1: 118 - 119.

Clegg, M.T., Ganong, W.F. (1969).
Environmental factors affecting reproduction. In: Reproduction in Domestic Animals, Ed. H.H. Cole and P.T. Cupps, Second Edition, 473 - 488.

Clemens, J.A., Meites, J. (1968).
Inhibition by hypothalamic prolactin implants of prolactin secretion, mammary growth, and luteal function. Endocrinology 82 : 878 - 881.

Clemens, J.A., Minaguchi, H., Storey, R., Voogt, J.L., Meites, J. (1969).
Induction of precocious puberty in female rats by prolactin. Neuroendocrinology 4 : 150 - 156.

Clemens, J.A., Sar, M., Meites, J. (1969).
Termination of pregnancy in rats by a prolactin implant in ME. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130 : 628 - 630.

Clermont, Y., Perey, B. (1957).
Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. Am. J. Anat. 100 : 241 - 267.

Critchlow, V., Bar-Sela, M.E. (1967).
Control of the onset of puberty. In: Neuroendocrinology, Ed. L. Martini und W.F. Ganong, pp. 101 - 162, Academic Press, New York.

Cutuly, E. (1941).
Implantation following mating in hypophysectomized rats injected with lactogenic hormone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48 : 315.

Cutuly, E. (1942).
Effects of lactogenic and gonadotropic hormones on hypophysectomized pregnant rats. Endocrinology 31 : 13 - 22.

Daane, T.A., Parlow, A.F. (1971).
Periovulatory patterns of rat serum follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during the normal estrous cycle: effects of pentobarbital. Endocrinology 88 : 653.

Dawson, A.B., McCabe, M. (1951).
The intestitial tissue of the ovary in infantile and juvenile rats. J. Morphology 88 : 543 - 571.

Day, F.T. (1939).
Vet. Record 51: 1113.

Deansley. R. (1938).
The reproductive cycle of the golden hamster Cricetus auratus. Proc. Zool. Soc. London A 108 : 31.

Desclin, L. (1949).
Observations sur la structure des ovaries chez des rats soumis a l'influence de la prolactin. Ann. d'Endocrin 10 : 1.

Döhler, K.D., Wuttke, W. (1974).
Time course of serum gonadotropins, prolactin and gonadal steriods in prepuberal male and female rats. Submitted for publication.

Dörner, G., Staudt, J. (1969).
Structural changes in the hypothalamic ventromedial nucleus of the male rat, following neonatal castration and androgen treatment. Neuroendocrinology 4 : 278 - 281.

Donovan, B.T., Van der Werfften Bosch, J.J. (1959).
The hypothalamus and sexual maturation in the rat. J. Physiol. (London) 147 : 78 - 92.

El Safoury, S., Bartke, A. (1974).
Effects of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on plasma testosterone levels in hypophysectomized and in intact immature and adult male rats. J. Endocrinology 61 : 193 - 198.

Evans, H.M., Simpson, M.E., Lyons, W.R., Turpeinen, K. (1941).
Anterior pituitary hormones which favor the production of traumatic uterine placentomata. Endocrinology 28 : 933 - 945.

Everett, J.W. (1969).
Neuroendocrine aspects of mammalian reproduction. Ann. Rev. Physiol. 31 : 383 - 416 .

Falck, B. (1953).
Occurrence of cholesterol and the formation of oestrogen in the infantile rat ovary. Acta Endocrinolog. 12 : 115 - 122.

Farner, D.S. (1959).
Photoperiodic control of annual gonadal cycles in birds. In: Photoperiodism and Related phenomena in Plants and Animals. Publ. No. 55., pp. 717 - 750. Am. Assoc. Advance. Sci., Washington, D.C.

Farner, D.S. (1961).
Comparative physiology : photoperiodicity. Ann. Rev. Physiol. 23 : 71 - 96.

Farner, D.S. (1962).
Hypothalamic neurosecretion and phosphatase activity in relation to the photoperiodic control of the testicular cycle of Zonotrichia leucophrys gambelii. Gen. Comp. Endocrinology Suppl. 1 : 160 - 167.

Freed, S.C., Coppock, A. (1936).
Fundamental similarity in the development of gonadotropic response in the immature guinea-pig and rat. Endocrinology 20 : 81 - 85.

Freeman, M.E., Neill, J.D. (1972).
The pattern of prolactin secretion during pseudopregnancy in the rat: a daily nocturnal surge. Endocrinology 90 : 1292 - 1294.

Freeman, M.E., Reichert, L.E., Neill, J.D. (1972).
Regulation of the proestrus surge of prolactin secretion by gonadotropin and estrogens in the rat. Endocrinology 90 : 232 - 238.

Gaarenstroom, J.H., Smelik, P.G., De Wied, D. (1960).
The ovarian response to chorionic gonadotropin in immature rats with lesions in basal hypothalamus. Mem. Soc. Endocrinology 9 : 65 - 69.

Gay, V.L., Midgley, A.R. Jr., Niswender, G.D. (1970).
Patterns of gonadotropin secretion associated with ovulation.
Fed. Proc. 29 : 1880 - 1887.

Goldman, B.D., Grazia, Y.R., Kamberi, I.A., Porter, J.C. (1971).
Serum gonadotropin concentrations in intact and castrated
neonatal rats. Endocrinology 88 : 771 - 776.

Gorski, R.A., Barraclough, C.A. (1963).
Effect of low dosages of androgen on the differentiation of
hypothalamic regulatory control of ovulation in the rat.
Endocrinology 73 : 210 - 216.

Gorski, R.A., Wagner, J.W. (1964).
Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus.
Endocrinology 76 : 226 - 239.

Gospodarowicsz, D., Legault-Démare, J. (1963).
Etude de l'activite biologique in vitro des hormones gonadotropes.
IV. Action synergique de la prolactine et de l'hormone chorio-
nique humaine sur le corps jaune de rat in vitro. Acta Endo-
crinol. 42 :509 - 518.

Grady, K.L., Phoenix, C.H., Young, W.C. (1965).
Role of the developing rat testis in differentiation of the
neural tissues mediating mating behavior. J. of Comp. Physiol.
Psychology 59 : 176 - 182.

Greene, R.R., Burrill, M.W., Ivy, A.C. (1939).
Experimental intersexuality. The effect of antenatal androgens on sexual development of female rats. Ann. J. Anat. 65 : 415 - 470.

Greenwald, G.S., Johnson, D.C. (1968).
Gonadotropic requirements for the maintenance of pregnancy in the hypophysectomized rat. Endocrinology 83 : 1052 - 1064.

Greep, R.O., Fevold, H.L., Hisaw, F.I. (1936).
Effects of 2 hypophyseal gonadotropic hormones on reproductive system of male rat. Anat. Rec. 65 : 261.

Hafiez, A.A., Bartke, A., Lloyd, C.W. (1972).
The role of prolactin in the regulation of testis function: the synergistic effects of prolactin and luteinizing hormone on the incorporation of [1 - ^{14}C] acetate into testosterone and cholesterol by testes from hypophysectomized rats in vitro. J. Endocrinology 53 : 223 - 230.

Hammond, J. Jr. (1954).
Light regulation of hormone secretion. Vitamins Hormones 12: 157 - 204.

Hammons, J., Velasco, M., Rothchild, J. (1973).
Effect of the sudden withdrawal or increase of suckling on serum LH levels in ovariectomized postparturient rats. Endocrinology 92 : 206.

Hashimoto, I., Henricks, D.M., Anderson, L.L., Melampy, R.M. (1968).
Progesterone and pregn-4-en-20α-ol-3-one in ovarian venous blood during various reproductive states in the rat. Endocrinology 82 : 333 - 341.

Harris, G.W. (1964).
Sex hormones, brain development, and brain function. Endocrinology 75 : 627 - 648 .

Harris, G.W., Levine. S. (1965).
Sexual differentiation of the brain and its experimental control. J. Physiology 181 : 379 - 400.

Hill, M., White, W.E. (1933).
The growth and regression of follicles in the estrous rabbit. J. Physiol. 80 : 174 - 178.

Hilliard, J. (1973).
Corpus luteum function in guinea pigs, hamsters, rats, mice and rabbits. Biol. Reprod. 8 : 203 - 221.

Hilliard, J., Hayward, J.N., Sawyer, C.H. (1964).
Postcoital patterns of secretion of pituitary gonadotropin and ovarian progestin in the rabbit. Endocrinology 75 : 957.

Hilliard, J., Spies, H.G., Lucas, L., Sawyer, C.H. (1968).
Effect of prolactin on progestin release and cholesterol storage by rabbit ovarian interstitium. Endocrinology 82 : 122 - 131.

Hisaw, F.L. (1947).
Development of the graafian follicle and ovulation. Physiol. Rev. 27 : 95 - 119.

Hohlweg, W. (1936).
Der Mechanismus der Wirkung von gonadotropen Substanzen auf das Ovar der infantilen Ratte. Klin. Wochenschr. 15 : 1832-1835.

Hohlweg, W., Junkman, K. (1932).
Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysen-vorderlappens. Klin. Wochenschr. 11 : 321 - 323.

Hotchkiss, J., Atkinson, L.E., Knobil, E. (1971).
Time course of serum estrogen and luteinizing hormone (LH) concentrations during the menstrual cycle of the rhesus monkey. Endocrinology 89 : 117.

Huang, W.Y., Pearlman, W.H. (1962).
The corpus luteum and steriod hormone formation. I. Studies on luteinized rat ovarian tissue in vitro. J. Biol. Chem. 237 : 1060 - 1065.

Hunter, W.M. (1969).
Assessment of radioionated hormone preparations. In: Karolinska Symposium on Research Methods in Reproductive Endocrinology : Immunoassay of Gonadotropins, pp. 134 - 144, Stockholm.

Hunter, W.M., Greenwood, F.C. (1962).
Preparation of iodine-131-labelled human growth hormone of high specific activity. Nature 194 : 495.

Jones, A.E., Fister, J.N., Lewis, U.J., Van der Laan, W.P. (1965).
Electrophoretic comparison of pituitary glands from male and female rats. Endocrinology 76 : 578 - 583.

De Jong, F.H. Hey, A.H., van der Molen, H.J. (1974).
Oestradiol-17β and testosterone in rat testis tissue: effect of gonadotropins, localization and production in vitro. J. Endocrinol. 60 : 409 - 419.

Keller, K., Tandler, J. (1916).
Über das Verhalten der Eihäute bei der Zwillingsträchtigkeit des Rindes. Untersuchungen über die Entstehungsursache der geschlechtlichen Unterentwicklung von weiblichen Zwillingskälbern, welche neben einem männlichen Kalbe zur Entwicklung gelangen. Wien. Tierärztliche Wochenschrift 3 : 513.

Kisch, E.S., Shelesnyak, M.C. (1968).
J. Reprod. Fertil 15 : 401.

Kragt, C.L., Dahlgren, J. (1972).
Development of neural regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) secretion. Neuroendocrinology 9 : 30 - 40.

Lamprecht, S.A., Linder, H.R., Strauss, J.F. (1969).
Introduction of 20α-hydroxysteroid dehydrogenase in rat corpora lutea by pharmacological blockade of pituitary prolactin secretion. Biochim. Biophys. Acta 187 : 133.

Lawton, I.E., Sawyer, C.A. (1968).
Timing of gonadotrophin and ovarian steroid secretion at diestrus in the rat. Endocrinology 82 : 831 - 836.

Leonard, S.L., Smith, P.E. (1934).
Responses of the reproductive system of hypophysectomized rats to injections of pregnancy-urine extracts. II. The female. Anat. Record 58 : 175 - 203.

Levine, S. (1966).
Sex differences in the brain. In: Psychobiology, the biological basis of behavior (readings from Scientific American), Eds. J.L. McGaugh, N.M. Weinberger, R.E. Whalen, pp. 76 - 81, Freeman and Company, San Francisco.

Leymarie, P., Roger, M., Castanier, M., Scholler, R. (1974).
Circadian variation of plasma testosterone and estrogens in normal men. J. Steroid Biochem. 5 : 167.

Lillie, F.R. (1916).
The theory of the freemartin. Science 43 : 611 - 613.

Lillie, F.R. (1917).
The freemartin : A study of the action of sex hormones in the fetal life of cattle. J. Exptl. Zool. 23 : 317 - 452.

Lindner, H.R., Lamprecht, S.A. (1970).
Mechanisms of luteolysis: prolactin and the enzymatic inactivation of pregesterone in the corpus luteum of the rat. In: Advances in the Biosciences 4, Schering Symposium on Mechanisms Involved in Conception, Ed. G. Raspé, pp. 419 - 428, Pergamon Press-Vieweg, Braunschweig.

Lindner, H.R., Shelesnyak, M.C. (1967).
Effect of ergocornine on ovarian synthesis of progesterone and 20-hydroxy-pregn-4-en-3 one in the pseudopregnant rat. Acta Endocrinolog. 56 : 27.

Loewit, K., Badawy, S., Laurence, K. (1969).
Alteration of corpus luteum function in the pregnant rat by antiluteinizing hormone. Endocrinology 84 : 244 - 251.

Loewit, K., Laurence, K. (1969).
Termination of pregnancy in the rat with rabbit antibovine LH serum. Fertil Steril 20 : 679 - 688.

Loewit, K. (1970).
Zur Bedeutung des hypophysären Luteinisierungshormons für Schwangerschaft, Geburt und Laktation bei der Ratte. Acta Endocrinolog Suppl. 65, 149 : 5 - 32.

Long, J.A., Evans, H.M. (1922).
The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. Memoirs of the University of California 6 : 1.

Linkie, D.M., Niswender, G.D. (1972).
Serum levels of prolactin, luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone during pregnancy in the rat. Endocrinology 90 : 632 - 637.

Lu, K.H., Koch, Y., Meites, J. (1971).
Direct inhibition by ergocornine of pituitary prolactin secretion. Endocrinology 89 : 229.

Lyons, W.R., Ahmad, N. (1973).
Hormonal maintenance of pregnancy in hypophysectomized rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142 : 198.

Lyons, W.R., Simpson, M.E., Evans, H.M. (1943).
Hormonal requirements für pregnancy and mammary development in hypophysectomized rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52 : 134 - 136.

Mallampati, R.S., Johnson, D.C. (1973).
Serum and pituritary prolactin, LH, and FSH in androgenized female and normal male rats treated with various doses of estradiol benzoate. Neuroendocrinology 11 : 46 - 56.

Malven, P.V., Hoge, W.R. (1971).
Effect of ergocornine on prolactin secretion by hypophyseal homografts. Endocrinology 88 : 445.

Maneckjee, R., Raj, H.G.M., Moudgal, N.R. (1973).
Comparative effects of antiserum to luteinizing hormone on pseudopregnancy and pregnancy induced in the same rat. Biol. Reprod. 8 : 43 - 47.

Marsh, J.M., Telegdy, G., Savard, K.
Effect of gonadotropins on steroidogenesis in rat ovaries at dioestrus. Nature 212 : 950.

Marshall, F.H.A. (1922).
The Physiology of Reproduction. Longmans, Green, New York.

Marshall, F.H.A. (1936).
Sexual periodicity and causes which determine it (The Croonian Lecture) : Phil. Trans. B 226 : 423 - 456.

Marshall, F.H.A. (1942).
Exteroceptive factors in sexual periodicity. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 17 : 68 - 90.

Marshall, F.H.A. (1956).
Physiology of Reproduction, 3rd Ed. Vol. 1, I. Longmans, Green, New York.

McCann, S.M., Ramirez, V.D. (1964).
The neuroendocrine regulation of hypophyseal luteinizing hormone secretion. Recent Progr. Horm. Research 20 : 131 - 181.

McCormack, C.E., Meyer, R.K. (1963).
Ovulation induced by progesterone in immature rats pretreated with pregnant mare serum gonadotropin. Gen. Comp. Endocrinol. 3 : 300 - 307.

McCormack, C.E., Meyer, R.K. (1964).
Minimal age for induction of ovulation with progesterone in rats: Evidence for neural control. Endocrinology 74 : 793 - 799.

McLean, B.K., Nikitovitch-Winer, M.B. (1973).
Corpus luteum function in the rat: a critical period for luteal activitation and the control of luteal maintenance. Endocrinology 93 : 316 - 323.

McNeilly, A.S. Sturdy, J., Evands, D.G., Chard, T. (1974).
Short-term variation in blood levels of prolactin, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in normal men throughout the day. J. Endocrinol. 61 : 301 - 302.

Meijs-Roelofs, H.M.A., Uilenbroek, J.Th.J., de Jong, F.H., Welschen, R. (1973a).
Plasma oestradiol-17β and its relationship to serum follicle-stimulating hormone in immature female rats. J. Endocrinology 59: 295 - 304.

Meijs-Roelofs, H.M.A., Uilenbroek, J.Th.J., Osman, P., Welschen, R. (1973b).
Serum levels of gonadotrophins and follicular growth in prepuberal rats. In: The Development and Maturation of the Ovary and its Functions. Ed. H. Peters, International Congress Series, No. 267, pp. 3 - 11, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam.

Meites, J., Lu, K.H., Wuttke, W., Welsch, C.W., Nagasawa, H., Quadri, S.K. (1972).
Recent studies on functions and control of prolactin secretion in rats. Rec.Progr. Horm. Res. 28 : 471 - 526.

Miyachi, Y., Nieschlag, E., Lipsett, M. (1973).
The secretion of gonadotropins and testosterone by the neonatal male rat. Endocrinology 92 : 1 - 5.

Miyake, T. (1969).
Causal relationship between steroid secretion and pituitary luteinizing hormone release in the estrous cycle. Endocrinolog. Japan Suppl. 1: 83.

Monroe, S.E., Rebar, R.W., Gay, V.L., Midgley, A.R.Jr. (1969).
Radioimmunoassay for determination of luteinizing hormone during the estrous cycle of the rat. Endocrinology 85 : 720.

Morishige, W.K., Rothchild, I. (1974).
Temporal aspects of the regulation of corpus luteum function by luteinizing hormone, prolactin and placental luteotrophin during the first half of pregnancy in the rat. Endocrinology 95 : 260 - 274.

Moudgal, N.R. (1969).
Effects of ICSH on early pregnancy in hypophysectomized pregnant rats. Nature 222: 286.

Moudgal, N.R., Behrman, H.R., Greep, R.O. (1972).
Effect of luteinizing hormone antiserum on progesterone and 20α-dihydroprogesterone secretion in the pregnant rat. J. Endocrinology 52 : 413 - 418.

Nadler, R.D. (1968).
Masculinization of female rats by intracranial implantation of androgen in infancy. J. Comp. Physiol. Psychology 66: 157-167.

Nagasawa, H., Meites, J. (1970).
Suppression by ergocornine and iproniacid of carcinogen-induced mammary tumors in rats: effects on pituitary and serum prolactin levels, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135 : 469.

Nalbandov, A.V. (1970).
Comparative aspects of corpus luteum function. Biol. Reprod. 2 : 7 - 13.

Negro-Vilar, A., Krulich, L., McCann, S.M. (1973).
Changes in serum prolactin and gonadotropins during sexual development of the male rat. Endocrinology 93 : 660 - 664.

Neill, J.D. (1972).
Sexual differences in the hypothalamic regulation of prolactin secretion. Endocrinology 90 : 1154 - 1159.

Neill, J.D., Freeman, M.E., Tillson, S.A. (1971).
Control of the proestrus surge of prolactin and luteinizing hormone secretion by estrogens in the rat. Endocrinology 89 : 1448.

Nelson, W.O., Merckel, C.E. (1938).
Maintenance of spermatogenesis in hypophysectomized mice with androgenic substances. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 38 : 737.

Neumann, F., von Berswordt-Wallrabe, R., Elger, W., Steinbeck, H., Hahn, J.D., Kramer, M. (1970).
Aspects of androgen-dependent events as studied by antiandrogens. Recent Progr. Horm. Res. 26 : 337 - 410.

Neumann, F., Elger, W. (1965).
Physiological and psychological intersexuality of male rats by early treatment with an antiandrogenic agent (1,2 α-methylene-6-chloro-delta 6-hydroxy-progesterone-acetate). Acta Endocr. Suppl. 100 : 174 (Abstract).

Neumann, F., Elger, W. (1966).
Permanent changes in gonadal function and sexual behavior as a result of early feminization of male rats by treatment with an antiandrogenic steroid. Endokrinologie 50 : 209 - 225.

Niswender, G.D., Chen, C.L., Midgley, A.R. Jr., Meites, J., Ellis, S. (1969).
Radioimmunoassay for rat prolactin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130 : 793.

Niswender, G.D., Midgley, A.R. Jr., Monroe, S.E., Reichert, L.H. Jr. (1968).
Radioimmunoassay for rat luteinizing hormone with antiovine LH serum and ovine LH-^{131}I. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128 : 807.

Odell, W.D., Swerdloff, R.S., Jacobs, H.S., Hoscox, M.A. (1973a).
FSH induction of sensitivity to LH : one cause of sexual maturation in the male rat. Endocrinology 92 : 160 - 165.

Odell, W.D., Swerdloff, R.S., Wollesen, F., Grover, P.K. (1973b).
The effect of sexual maturation on testicular sensitivity to LH stimulation. Clin Res. 21 : 203.

Ojeda, S.R., Ramirez, V.D. (1972).
Plasma levels of LH and FSH in maturing rats : response to hemigonadectomy. Endocrinology 90 : 466 - 472.

Ojeda. S.R., Ramirez, V.D. (1973/74).
Short term steroid treatment on plasma LH and FSH in castrated rats from birth to puberty. Neuroendocrinology 13 : 100 - 114.

Parlow, A.F., Coyotupa, J., Kovacic, N. (1973).
The sequence of changes in prepubertal male rat serum testosterone following intravenous injection of rat LH. J. Reprod. Fert. 32 : 163 - 165.

Pedersen, T. (1969).
Follicle growth in the immature mouse ovary.
Acta Endocrinolog. 62 : 117 - 132.

Pfeiffer, C.A. (1936).
Sexual differences of the hypophyses and their determination by the gonads. Am. J. Anat. 58 : 195 - 226.

Pharris, B.B., Wyngarden, L.J. (1969).
The effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on the progestagen content of ovaries from pseudopregnant rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130 : 92 - 94.

Piacsek, B.E., Schneider, R.C., Gay, V.L. (1971).
Sequential study of luteinizing hormone (LH) and "progestin" secretion on the afternoon of proestrus in the rat. Endocrinology 89 : 39.

Pirke, K.M. (1973).
A comparison of three methods of measuring testosterone in plasma: competitive protein binding, radioimmunoassay without chromatography and radioimmunoassay including thin layer chromatography. Acta Endocrinolog. 74 : 168.

Piva, F., Gagliano, P., Motta, M., Martini, L. (1973).
Adrenal progesterone: factors controlling its secretion. Endocrinology 93 : 1178 - 1184.

Quinn, D.L., Zarrow, M.X. (1964a).
Inhibition of pregnant mare's serum induced ovulation in the immature rat. Endocrinology 74 : 309 - 313.

Quinn, D.L., Zarrow, M.X. (1964b).
Inhibition of PMS induced ovulation following hypothalamic lesions. Program 46th Meeting Endocrine Society, San Francisco, p. 24.

Raj, H.G.M., Moudgal, N.R. (1970).
Hormonal control of gestation in the intact rat. Endocrinology 86 : 874 - 889.

Ramirez, V.D. (1971).
Sex and brain pituitary function at puberty. In: Steroid Hormones and Brain Function, Eds. C.H. Sawyer and R.A. Gorski, pp. 301 - 310, University of California Press, Berkeley.

Ramirez, V.D., McCann, S.M. (1963).
Comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats. Endocrinology 72 : 452 - 464.

Ramirez, V.D., Sawyer, C.H. (1965).
Advancement of puberty in the female rat by estrogen. Endocrinology 76 : 1158 - 1168.

Ratner, A., Meites, J. (1964).
Depletion of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by estradiol or suckling stimulus. Endocrinology 75 : 377 - 382.

Redmond, W.C. (1968).
Ovulatory response to brain stimulation or exogenous luteinizing hormone in progesterone-treated rats. Endocrinology 83 : 1013 - 1022.

Rennels, E.G. (1951).
Influence of hormones on the histochemistry of ovarian interstitial tissue in the immature rat. Am. J. Anat. 88 : 63 - 107.

Resko, J.A., Feder, A.A., Goy, R.W. (1968).
Androgen concentrations in plasma and testis of developing rats. J. Endocrinology 40 : 485 - 491.

Rezabek, K., Semonsky, M., Kucharczyk, N. (1969).
Suppression of conception with D-6-methyl-8-cyanomethylergoline (I) in rats. Nature 221: 666.

Rowan, W. (1925).
Reaction of light to bird migration and developmental changes. Nature 115 : 494 - 495.

Sawyer, C.H. (1959).
Seasonal variations in the incidence of spontaneous ovulation in rabbits following estrogen treatment. Endocrinology 65 : 532 - 535.

Sawyer, C.H. (1969).
In: The Hypothalamus, Eds. W. Haymaker, E. Anderson, W.J.H. Nauta, pp. 389, Thomas, Springfield, Illinois.

Schams, D., Butz, H.D. (1972).
Plasmaspiegel von LH bei weiblichen und männlichen Rindern vom Tage der Geburt bis zum Eintritt der Pubertät. VII. Internationaler Kongreß für tierische Fortpflanzung, München, Band 3,S. 2175 - 2178.

Schams, D., Karg, H. (1972).
The immediate response of the plasma prolactin level to estrogen infusions in dairy cows. Acta Endocrinolog. 69 : 47.

Schneider, T., Piacsek, B., Gay, V. (1970).
Simultaneous measurements of progesterone and 20-α-OH-pregn-4-en-3-one in ovarian venous blood and of luteinizing hormone in systemic blood on the afternoon of pro-estrus in the rat. Fed. Proc. 29 : 440.

Schwartz, N.B. (1969).
A modell for the regulation of ovulation in the rat. Recent Prog. Horm. Res. 25 : 1 - 55.

Schwartz, N.B. (1970).
Control of rhythmic secretion of gonadotropins. In: The Hypothalamus. Eds. L. Martini, M. Motta, F. Fraschini, pp. 515 - 528, Academic Press, Inc., New York,

Serisawa, K., Arai, Y. (1974).
Effect of LH or HCG on differentiation of masculine pattern of gonadotropin regulation in the male rat. Endocrinolog. Jap. 21 : 29 - 31.

Shaikh, A.A. (1971).
Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. Biol. Reprod. 5 : 297 - 307.

Shelesnyak, M.C. (1955).
Disturbance of hormone balance in the female rat by a single injection of ergotoxine ethanesulfonate. Am. J. Physiol. 180 : 47 - 49.

Shelesnyak, M.C. (1957).
Some experimental studies on the mechanism of ova-implantation in the rat. Recent Progr. Horm. Res. 13 : 269 - 322.

Shelesnyak, M.C. (1958).
Maintenance of gestation in ergotoxine-treated pregnant rats by exogenous prolactin. Acta Endocrinol. 27 : 99.

Shelesnyak, M.C., Barnea, A. (1963).
Studies on the mechanism of ergocornine (ergotoxine) interference with decidualization and nidation: II. Failure of topicale application of ergocornine to reveal the site of action of the alkaloid. Acta Endocrinolog. 43 : 469 - 476.

Skreb, N. (1954).
Experimentelle Untersuchungen über die äußeren Ovulationsfaktoren bei der Fledermaus Nyctalus noctula. Naturwiss. 41 : 484.

Smith, P.E. (1927).
The disabilities caused by hypophysectomy and their repair. J. Amer. Med. Ass. 88 : 158.

Sojka, N.J., Jennings, L.L., Hammer, C.E. (1970).
Artificial insemination in the cat (Felis catus L.) Lab. Animal Care 20 : 198 - 204.

Steinberger, E., Steinberger, A. (1972).
The testis: growth versus function. In: Regulation of Organ and Tissue Growth, pp. 299 - 314, Academic Press, New York.

Steinberger, E., Steinberger, A., Ficher, M. (1970). Study of spermatogenesis and steroid metabolism in cultures of mammalian testes. Recent Progr. Horm. Res. 26 : 547.

Swanson, H.E., Van der Werff ten Bosch, J.J. (1964a). The "Early-androgen" syndrome; its development and the response to hemispaying. Acta Endocrinolog 45 : 1 - 12.

Swanson, H.E., Van der Werff ten Bosch, J.J. (1964b). The "Early-androgen" syndrome; differences in response to prenatal and postnatal administration of various doses of testosterone propionate in female and male rats. Acta Endocrinolog 47 : 37 - 50.

Thibault, C., Courot, M., Martinet, L., Mauleon, P., du Mesnil du Buisson, F., Ortavant, R., Pelletier, J., Signoret, J. (1966). Regulation of mammalian breeding seasons and estrous cycles by light and external stimuli. Proc. 7th Biennial Symp. Animal Reprod., Michigan State Univ., 1965, J. Animal Sci. Suppl. 25 : 119 - 139.

Thorneycroft, I.H., Stone, S.C. (1972). Radioimmunoassay of serum progesterone in women receiving oral contraceptive steroids. Contraception 5 : 129 - 146.

Voogt, J.L., Clemens, J.A., Collings, W.D. (1969). Effect of subcutaneous injections or implants of prolactin into the median eminence on onset of puberty and gonadotropin release in immature female rats. Fed. Proc. 28 : 437.

Voogt, J.L., Clemens, J.A., Meites, J. (1969).
Stimulation of pituitary FSH release in immature female rats by prolactin implantation in the median eminence. Neuroendocrinology 4 : 157 - 163.

Voogt, J.L., Meites, J. (1971).
Effects of an implant of prolactin in median eminence of pseudopregnant rats on serum and pituitary LH, FSH, and prolactin, Endrocrinology 88 : 286 - 292.

Walsh, E.L., Cuyler, W.K., McCullagh, D.R. (1934).
Physiologic maintenance of male sex glands; effect of androtin on hypophysectomized rats. Amer. J. Physiol. 107 : 508.

Weisz, J., Gunsalus, P. (1973).
Estrogen levels in immature female rats: true or spurious - ovarian or adrenal? Endocrinology 93 : 1057 - 1065.

Van der Werff ten Bosch, J.J. (1963).
Effects of cerebral lesions, blinding, and domestication on gonadal functions of the male ferret. J. Endocrinology 26: 113 - 123.

Welsch, C.W., Negro-Vilar, A., Meites, J. (1968).
Effects of pituitary homografts on host pituitary prolactin and hypothalamical PIF levels. Neuroendocrinology 3 : 238 - 245.

Whalen, R.E. (1964).
Hormone induced changes in the organization of sexual behavior in the male rat. J. Comp. Physiol. Psychology 57 : 175 - 182.

Whalen, R.E. (1968).
Differentation of the neural mechanisms which control gonadotropin secretion and sexual behavior. In: Perspectives of reproduction and sexual behavior. 303 - 340.

Wiest, W.G., Kidwell, W.R., Balogh, K. Jr. (1968).
Progesterone catabolism in the rat ovary: a regulatory mechanism for progestational potency during pregnancy. Endocrin. 82:844-859.

Woods, M.C., Simpson, M.E. (1961).
Pituitary control of the testis of the hypophysectomized rat. Endocrinology 69 : 91 - 125.

Wuttke, W., Döhler, K.D. (1974).
A new concept for puberty in rats: prolactin as regulator for puberty. Zur Veröffentlichung an Endocrinology eingereicht.

Wuttke, W., Cassell, E., Meites, J. (1971).
Effects of ergocornine on serum prolactin and LH and on hypothalamic content of PIF and LRF. Endocrinology 88 : 737-741.

Wuttke, W., Meites, J. (1970).
Effects of ether and pentobarbital on serum prolactin and LH levels in proestrous rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135: 648 - 652.

Wuttke, W., Meites, J. (1971).
Luteolytic role of prolactin during the estrous cycle of the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137 : 988 - 991.

Yanai, R., Nagasawa, H. (1974).
Effect of 2-Br-α-Ergocryptine on pituitary synthesis and release of prolactin and growth hormone in rats. Hormone Res. 5 : 1 - 5.

Yang, W.H., Sairam, W.R., Li, C.H. (1973).
The effect of ICSH-β and its combination with prolactin on the maintenance of pregnancy in the rat. Acta Endocrinolog. 72 : 173 - 181.

Ying, S.-Y., Greep, R.O. (1971).
Effect of age of rat and dose of a single injection of estradiol benzoate (EB) on ovulation and the facilitation of ovulation by progesterone (P). Endocrinology 89: 785.

Ying, S.-Y., Gove, S., Fang, V.S., Greep, R.O. (1973).
Ovulation in postpartum rats. Endocrinology 92 : 108 - 116.

Yoshinaga, K., Moudgal, N.R., Greep, R.O. (1971).
Progestin secretion by the ovary in lactating rats: Effect of LH-antiserum, LH and prolactin. Endocrinology 88 : 1126.

Yoshinaga, K., Macdonald, G.J., Greep, R.O. (1972).
Influence of various doses of LH on fetal survival in hypophysectomized rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140: 893 - 895.

Zarrow, M.X., Quinn, D.L. (1963).
Superovulation in the immature rat following treatment with PMS alone and inhibition of PMS induced-ovulation, J. Endocrinology 26 : 181 - 188.

Zeilmaker, G.H. (1968).
Effect of ergocornine methanesulfonate on the luteotropic activity of the ectopic mouse trophoblast. Acta Endocrinolog. 59: 442 - 446.

Zeilmaker, G.H. (1966).
The biphasic effect of progesterone on ovulation in the rat. Acta Endocrinolog. 51 : 461 - 468.

Zeilmaker, G.H., Carlsen, R.A. (1962).
Experimental studies on the effect of ergocornine methanesulphonate on the luteotropic function of the rat pituitary gland. Acta Endocrinolog. 41 : 321.

Zmigrod, A., Lindner, H.R., Lamprecht, S.A. (1972).
Reductive pathways of progesterone metabolism in the rat ovary. Acta Endocrinolog. 69 : 141.

LEBENSLAUF

Am 29. Dezember 1943 wurde ich als Sohn des Polizeiobermeisters Richard Döhler, und dessen Ehefrau Emma, in Weilburg an der Lahn geboren. Ab Ostern 1954 besuchte ich die Volksschule in Michelstadt im Odenwald und wechselte 1954 in das Gymnasium Michelstadt über. In der gymnasialen Oberstufe gehörte ich dem mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig an. Am 2. März 1963 bestand ich das Abitur und begann im Wintersemester 1964/65 mein Studium der Biologie und Chemie an der Universität Marburg. In 10 Semestern absolvierte ich alle für das Staatsexamen in Biologie und Chemie benötigten Kurse und Praktika und war außerdem als studentischer Vertreter im Senat der Universität, in Fakultät und Fakultätsförderungsausschuß, sowie als Mitglied des Studentenparlamentes und als Sprecher des Deutschen Wissenschafter Verbandes hochschulpolitisch tätig.

Aufgrund meines Interesses für die Verhaltensphysiologie und die Endokrinologie, bewarb ich mich 1969 um ein Zusatzstudium für diese Fachrichtungen in den USA. Meinem Antrag wurde stattgegeben, und mein Studium an der State University of California in Fresno wurde durch Stipendien des Deutschen Studentenwerkes, des Rektors der Universität Marburg, der Fulbright Kommission (Reisestipendium) und durch ein Louise-Wilson-Stipendium meiner Gastuniversität finanziert. Im Januar 1971 erhielt ich den "Degree" (Grad)

eines "Bachelor of Arts" der State University of California, im Fach Psychologie. Jeweils ein Semester studierte ich an der University of California, Berkeley (Zoologie und Psychologie, Sommer 1970) und an der University of California, Irvine (Psychobiologie, Sommer 1971). Im Februar 1971 schrieb ich mich für das Fach Biologie an der State University of California, Fresno ein, in welchem ich im Juli 1972 den "Degree" eines "Master of Arts" mit Auszeichnung ("with distinction") erhielt. Während des letzten Jahres meiner dortigen Ausbildung hatte ich als Lehrassistent drei Praktikumskurse im Fachbereich Biologie in Eigenverantwortung zu leiten. Im Februar 1972 heiratete ich in Fresno die nationalchinesische Studentin Ursula Han-Hua Fang.

Seit dem Wintersemester 1972/73 arbeite ich an meiner Dissertation im Fach Zoologie an der Georg-August-Universität in Göttingen, wo mein amerikanischer "Master of Arts Degree" vom Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät als dem deutschen Diplom in Biologie gleichberechtigt anerkannt wurde. Die Finanzierung dieser Arbeit erfolgte durch ein Promotionsstipendium der Universität Göttingen. Den experimentellen Teil meiner Dissertation führte ich in der Abteilung Neurophysiologie am Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen-Nikolausberg unter der Anleitung von Priv. Doz. Dr. W. Wuttke durch.